

Modellunterstützte Prozessauslegung unterschiedlicher Grundoperationen am Beispiel von kontinuierlicher Ultrafiltration und absatzweiser Kristallisation

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Ingenieurwissenschaften (Dr.-Ing.)

vorgelegt von
Maximilian Johannes Huter, M. Sc.
aus Duisburg

genehmigt von der Fakultät für Mathematik/Informatik und
Maschinenbau der Technischen Universität Clausthal

Tag der mündlichen Prüfung

20.11.2020

Vorsitzender der Prüfungskommission:

Prof. Dr. rer. nat. Alfred Weber

Institut für Mechanische Verfahrenstechnik

Technische Universität Clausthal

Betreuer:

Prof. Dr.-Ing. Jochen Strube

Institut für Thermische Verfahrens- und Prozesstechnik

Technische Universität Clausthal

Gutachter:

Herr Prof. Dr.-Ing. Marcus Grünewald

Lehrstuhl für Fluidverfahrenstechnik

Ruhr-Universität Bochum

Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Tätigkeit als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Thermische Verfahrens- und Prozesstechnik der Technischen Universität Clausthal. Während dieser Zeit unterstützten mich viele Personen, denen ich nun herzlich danken möchte.

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr.-Ing. Jochen Strube, der mir durch konstruktive Diskussionen und gezielte Fragestellungen geholfen hat, meine Arbeit weiterzuentwickeln und die Forschung voranzutreiben.

Auch möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr.-Ing. Marcus Grünewald für die Anfertigung des Gutachtens und Herrn Prof. Dr. rer. nat. Alfred Weber für den Prüfungsvorsitz bedanken.

Weiterer Dank gilt meinen Kollegen vom ITVP, Fabian Mestmäcker, Heribert Helgers, Lara Lohmann, Leon Klepzig, Lukas Uhlenbrock, Dr. Martin Kornecki, Dr. Maximilian Sixt und Mourad Mouellef. Besonders möchte ich hierbei Axel Schmidt und Dr. Steffen Zobel-Roos hervorheben, an die ich mich stets mit wissenschaftlichen Fragestellungen wenden konnte.

Weiterhin möchte ich mich bei meinen Vorgängern bedanken, welche die Basis für meine Forschung gelegt haben. Dr. Holger Thiess war mir mit vielen fachlichen Diskussionen und Hilfestellungen eine große Stütze für die Ultrafiltration. Auch Dr. Martin Lucke möchte ich für die Vorarbeit im Bereich der Kristallisation danken.

Ebenso wäre diese Arbeit nicht ohne die technischen Mitarbeiter des Instituts möglich gewesen. Daher gilt Frank Steinhäuser, der als Laborleiter mit seiner ruhigen, engagierten Art eine große Hilfe war, Thomas Knebel, der viele meiner Messungen mit seinem technischen Geschick erst möglich gemacht hat, Volker Strohmeyer für das Erstellen meines Membranversuchsstandes und Wolfgang Otto für die Weiterentwicklung des Kristallisators großer Dank. Bei Claudia Lacheta möchte ich mich ebenfalls besonders für ihre administrativen und organisatorischen Tätigkeiten sowie viele gute Gespräche bedanken. Auch möchte ich Prof. Dr. Martin Tegtmeier und Dr. Reinhard Ditz nicht unerwähnt lassen, die mit ihrem Wissen gute Diskussionspartner für diverse Fragen waren.

Der experimentelle Aufwand dieser Arbeit war logischerweise nicht allein zu bewältigen. Daher möchte ich meinen Abschlussarbeitern Isabelle Brandt, Sebastian Rettmer, Sebastian Weismann und Thomas Weber für ihre Hilfe sowie ihr Arbeiten danken. Auch möchte ich mich bei Christoph Jensch bedanken, der mir in der finalen Phase eine große Hilfe für meine Membranversuche war.

Ganz besonderer Dank gilt natürlich meiner Mutter und meinem Vater, die mir meinen Weg durch mein Leben bis zu dieser Arbeit erst ermöglicht haben. Auch möchte ich mich bei meiner Schwester für die Unterstützung auf dem Weg zum Studium bedanken.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meiner Freundin Karla Niggemann bedanken. Sie hat mir in stressigen Phasen viel Verständnis entgegengebracht und war mit ihrem Rückhalt ein sehr großer Faktor für die Vollendung meiner Dissertation.

Danke.

Düsseldorf, Dezember 2020

Maximilian Johannes Huter

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| Inhaltsverzeichnis..... | i |
| 1 Einleitung | 1 |
| 2 Stand der Technik..... | 3 |
| 2.1 Prozessentwicklung für biologische und pflanzliche Komponenten..... | 3 |
| 2.1.1 Kontinuierliche Produktion..... | 5 |
| 2.2 Membranverfahren | 6 |
| 2.2.1 Grundlagen und Klassifizierung..... | 6 |
| 2.2.2 Einsatzbereiche in biotechnologischen Prozessen..... | 8 |
| 2.2.3 Betriebsarten der Filtration | 9 |
| 2.2.4 Kontinuierliche Ultrafiltration..... | 11 |
| 2.2.5 Filtrationsmodule | 13 |
| 2.3 Kristallisation | 16 |
| 2.3.1 Grundlagen | 16 |
| 2.3.2 Einsatz in biotechnologischen Prozessen..... | 17 |
| 2.3.3 Löslichkeit und Übersättigung..... | 18 |
| 2.3.4 Primäre Keimbildung | 20 |
| 2.3.5 Sekundäre Keimbildung..... | 22 |
| 2.3.6 Kristallwachstum..... | 23 |
| 2.3.7 Agglomeration..... | 24 |
| 2.3.8 Reinheit von Kristallen | 25 |
| 2.3.9 Prozessführung in der Kühlungskristallisation..... | 28 |
| 3 Modellentwicklung | 30 |
| 3.1 Modellunterstützte Prozessentwicklung..... | 30 |
| 3.2 Ultrafiltration | 34 |
| 3.2.1 Überblick Modellierung | 34 |
| 3.2.2 Bilanzräume des Modells | 37 |
| 3.2.3 Massentransport | 37 |

| | | |
|--------|--|----|
| 3.2.4 | Konzentrationspolarisation..... | 38 |
| 3.2.5 | Massentransferkoeffizient..... | 38 |
| 3.2.6 | Osmotic Pressure Model | 40 |
| 3.2.7 | Boundary Layer Model..... | 41 |
| 3.2.8 | Druckverlust | 41 |
| 3.2.9 | Hydraulischer Durchmesser..... | 42 |
| 3.2.10 | Adaption des Modells auf eine mehrstufige Filtration..... | 43 |
| 3.2.11 | Übertragbarkeit des Modells auf andere Systeme..... | 44 |
| 3.3 | Kristallisation | 46 |
| 3.3.1 | Überblick Modellierung | 46 |
| 3.3.2 | Löslichkeit, Überlöslichkeit und Übersättigung | 50 |
| 3.3.3 | Energiebilanz | 50 |
| 3.3.4 | Massenbilanz..... | 51 |
| 3.3.5 | Populationsbilanz..... | 52 |
| 4 | Material und Methoden..... | 56 |
| 4.1 | Ultrafiltration | 56 |
| 4.1.1 | Versuchsaufbau | 56 |
| 4.1.2 | Verwendete Lösungen..... | 57 |
| 4.1.3 | Versuchsmethoden..... | 58 |
| 4.1.4 | Analysemethoden..... | 60 |
| 4.2 | Kristallisation | 61 |
| 4.2.1 | Versuchsaufbau | 61 |
| 4.2.2 | Verwendete Materialien | 61 |
| 4.2.3 | Versuche | 62 |
| 4.2.4 | Analysemethoden..... | 64 |
| 5 | Ergebnisse und Diskussion..... | 66 |
| 5.1 | Ultrafiltration | 66 |
| 5.1.1 | Sensitivitätsstudie und Charakterisierung des Modells..... | 66 |
| 5.1.2 | Parameterbestimmung | 70 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 5.1.3 | Modellvalidierung..... | 75 |
| 5.1.4 | Modellbasierte Optimierung | 80 |
| 5.1.5 | Vergleich zu dem kommerziellen SPTFF-Kit..... | 85 |
| 5.2 | Kristallisation | 87 |
| 5.3 | Charakterisierung des Modells und Sensitivitätsstudie | 87 |
| 5.4 | Prozessauslegung und Parameterbestimmung | 91 |
| 5.4.1 | Prozessintegration..... | 116 |
| 6 | Zusammenfassung und Ausblick | 119 |
| 7 | Tabellenverzeichnis..... | 121 |
| 8 | Abbildungsverzeichnis..... | 122 |
| 9 | Symbole und Indizes..... | 127 |
| 10 | Literaturverzeichnis | 129 |

1 Einleitung

In den zurückliegenden Dekaden nahm die Herstellung nachhaltiger, pharmazeutischer Wertstoffe sowohl aus Pflanzen (*engl.: Botanicals*) als auch tierischen Zellkulturen (*engl.: Biologicals*) stark zu. Um aus diesen Ausgangsmaterialien den gewünschten Zielstoff zu isolieren, sind komplexe, spezifische Aufarbeitungsschrittketten (*engl.: Downstream Processing, DSP*) notwendig [Ditz 2017, Kassing 2012, Sommerfeld 2005]. Im Falle von Biologicals, wie beispielsweise monoklonalen Antikörpern zur Krebstherapie, machen diese 50 - 80 % der Herstellungskosten aus [Roque 2004, Sommerfeld 2005]. Die Optimierung solcher DSPs bietet daher großes monetäres Potenzial. Einer der vielversprechendsten Ansätze hierfür ist der Wechsel zu kontinuierlichen biologischen Prozessen (*engl.: Continuous Bioprocessing, CBP*). Mit diesem ist es möglich nicht nur die Produktionskapazität massiv zu steigern [Warikoo 2012], sondern auch Qualitätsschwankungen zu reduzieren, wie sie bei traditionellen, absatzweise durchgeführten Herstellungen existieren [Konstantinov 2011, Konstantinov 2015, Subramanian 2018, Zydney 2016]. Auch das Einbeziehen innovativer QbD (Quality by Design) - Methoden sowie *Process Analytical Technology* (PAT) bieten nicht nur die Möglichkeit die Prozessketten weiter zu verbessern, sondern werden sogar von der amerikanischen Federal Drug Administration (FDA) gefordert und gefördert [EMA 2011, FDA 2004a, FDA 2005, Lee 2015, Woodcock 2014]. Damit diese innovativen Vorgehensweisen aber eine reizvolle Alternative darstellen, müssen die Gesamtkosten der Produktion substantiell reduziert werden [Strube 2018, Zobel-Roos 2019a].

Zur Isolierung von Biologicals werden an vielen Positionen im DSP Membranverfahren eingesetzt. Diese nehmen dort zwar primär unterstützende Prozessaufgaben an und besitzen eine untergeordnete Trennfunktion, dennoch sind sie essenziell und werden aufgrund ihrer milden Prozessbedingungen sowie niedrigen Kosten sehr häufig verwendet [Baker 2012, Charcosset 2012, Cheryan 1998, Fröhlich 2012, Grote 2011, Grote 2012, Thiess 2017, van Reis 2007, Zydney 2016]. Für kontinuierliche Prozesse dieser Art waren die Filtrationsmethoden für eine lange Zeit das *Bottleneck* und besitzen bis heute noch ein weiträumiges Optimierungspotential [Jungbauer 2013].

Der Einsatz pflanzenbasierender Medikamente genießt in der allgemeinen Bevölkerung eine äußerst positive Wahrnehmung und die Nachfrage hierfür steigt stetig [Ditz 2017, Kassing 2012]. In den entsprechenden Prozessketten ist die Kristallisation eine der häufigsten anzutreffenden Grundoperation. Diese agiert vorzugsweise als Übergang von DSP zu Formulierung [Beckmann 2013, Chemat 2015, Harjo 2004, Malwade 2013a]. Jedoch bietet ein Kristallisationsschritt zusätzlich die Möglichkeit, selektiv die Zielkomponente zu isolieren und damit den Prozess zu verschlanken [Beckmann 2013].

In dieser Arbeit soll eine Optimierung zweier unterschiedlicher Prozessschritte durch systematisches Vorgehen und Modellunterstützung vollzogen werden. Mithilfe von QbD-Methoden und systematischer Effekttrennung soll das Prozessverständnis der Produzenten gesteigert werden [Degerman 2009, del Val 2010, FDA 2003, FDA 2004b, FDA 2005, FDA 2008, FDA 2009, FDA 2013]. Darüber hinaus sollen zusätzlich dynamische Modelle erstellt werden, welche in der Lage sind, diese Effekte prädictieren zu können. Die Modellstruktur soll dabei einerseits modular vorliegen, um eine Übertragbarkeit zu anderen Systemen zu vereinfachen und andererseits müssen die Parameter mit möglichst wenig Versuchen zu bestimmen sein. Im Anschluss soll eine modellbasierte Optimierung durchgeführt werden, mit der sowohl der Materialeinsatz als auch der zeitliche Aufwand drastisch reduziert werden können.

Als Besonderheit der Ultrafiltration wird eine kontinuierliche Filtration betrachtet. Diese wird für eine niedrigkonzentrierte Proteinlösung eines monoklonalen Antikörpers sowie einer hochkonzentrierten, bovinen Serumalbumin-Lösung (*engl.: Bovine Serum Albumin, BSA*) durchgeführt.

Als Gegenstück hierzu fungiert die Kristallisation mit dem Zielstoff Artemisinin. Diese wird in dieser Arbeit absatzweise durchgeführt. Ziel sind hierbei einerseits die Entwicklung eines definierten Prozesses, bei dem neben der Ausbeute auch die Partikelgröße anpassbar sein sollen. Außerdem soll die Rolle im Prozess untersucht werden. Weiterhin gilt zu klären, ob der Kristallisationsschritt zu einem früheren Zeitpunkt im Prozess gewinnbringend eingesetzt werden kann und dadurch ein verkürzter, kostengünstigerer Herstellungsweg möglich ist.

2 Stand der Technik

2.1 Prozessentwicklung für biologische und pflanzliche Komponenten

Im Gegensatz zu diversen synthetischen Prozessen, bei denen der Weg vom Edukt-zum Produkt über chemische Reaktionen abläuft, erfolgt die Wirkstoffgewinnung bei biotechnologischen und botanischen Produkten meist durch eine Prozesskette, wie sie in der nachfolgenden Abbildung 2.1 dargestellt ist.

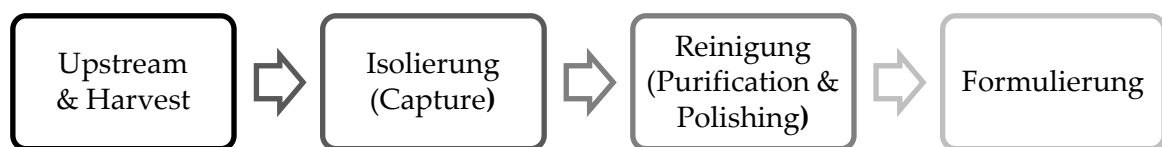


Abbildung 2.1: Schematischer Prozessablauf. Adaptiert von [Antranikian 2006].

Über das sogenannte Upstream Processing (USP) wird der Zielstoff produziert und anschließend im Downstream Processing (DSP) von Nebenkomponten abgetrennt und in ein Zielmedium überführt [Antranikian 2006].

Im Falle von biotechnologischen Prozessen wird während des UPS das gewünschte Produkt durch Zellsuspensionen hergestellt. Die ersten Generationen von Pharmaproteinen wurden hierbei mittels *Escheria coli* und *Saccharomyces cerevisiae* synthetisiert, da diese bereits in den 1970er und 1980er Jahren gentechnisch verändert werden konnten. Glykosylierte, komplexe Proteine hingegen werden in den häufigsten Fällen mithilfe von Säugetierzellen produziert, da beispielsweise *E. coli* nicht über Enzyme zur Glykosylierung verfügt [Sahm 2013]. Im Falle von botanischen Wertstoffen, die aus Pflanzen gewonnen werden, bezeichnet der Begriff Upstream den kompletten Bereich vom Kultivieren der Pflanze, deren Ernte und Sortierung. Zusätzlich inkludiert der Upstream den fest-flüssig Extraktionsschritt, der zu einem Vielstoffgemisch führt, aus dem unter anderem die gewünschte Zielkomponente isoliert werden kann [Koudous 2017, Sixt 2018b].

Über den auf den USP folgenden DSP wird das gewünschte Produkt aus dem Vielkomponentengemisch isoliert. Bei dieser Aufreinigung gilt, dass mit jedem zusätzlichen Prozessschritt die Reinheitssteigerung geringer ausfällt, aber der Produktverlust sowie die Kosten ansteigen. Demnach sollte die Anzahl der Grundoperationen so gering wie möglich gehalten werden, um einen effizienten Prozess zu gestalten [Antranikian 2006]. Der erste Teil der Aufreinigung fermentativer Prozesse besteht aus der Zellabtrennung bzw. Zellernte (*engl. Harvest*). Hierbei gibt es mehrere klassische Arten der Abtrennung:

- Filtration
- Sedimentation
- Zentrifugation

Sedimentation und Zentrifugation basieren auf den Dichteunterschieden zwischen der festen und der flüssigen Phase, wohingegen die Filtration mehrere Trennkriterien (Teilchengröße, Abscheidemechanismus) aufweist [Chmiel 2011]. Liegt das Produkt intrazellulär vor, muss zusätzlich ein Zellaufschluss erfolgen. Hierfür gibt es physikalisch-mechanische Verfahren, wie Mühlen oder Ultraschall, aber auch biologische (z.B. Enzyme) oder chemische Verfahren (z.B. Lösungsmittel) [Antranikian 2006]. An die Zellabtrennung schließen die oben genannten Isolierungsschritte zur Erhöhung der Reinheit an. Diese stellen die eigentliche Produktaufreinigung dar und lassen sich im Allgemeinen mit den Grundoperationen

- Extraktion
- Chromatographie
- Filtration
- Fällung und Kristallisation

erreichen [Antranikian 2006]. Besitzt das Produkt die gewünschte Reinheit, findet im finalen Schritt die Formulierung statt. Das bedeutet, dass der Wirkstoff in einen Zustand überführt wird, in dem er gelagert bzw. verabreicht werden kann. Hierbei kann für Proteine eine Diafiltration zum Einsatz kommen, die den Puffer austauscht. Im Falle der Botanicals kann beispielsweise durch eine Kristallisation eine definierte Überführung in einen festen Zustand erreicht werden, auf die z.B. noch eine Tablettierung anschließt [Mullin 2001].

Der Downstream stellt einen der größten Kostenfaktoren für die Medikamentenherstellung dar. Dies liegt zum einen an der Anzahl der Reinigungsschritte [Antranikian 2006], zum anderen an den hohen Kosten einzelner Grundoperationen, wie der Affinitätschromatographie [Sommerfeld 2005]. Daher bieten sämtliche Teilaspekte des DSPs das Potential Kosten zu reduzieren und den Gesamtprozess wirtschaftlich zu verbessern.

2.1.1 Kontinuierliche Produktion

Eine der Hauptansätze Für die Verringerung der Kosten ist der Wechsel von absatzweise durchgeführten Prozessen zu kontinuierlicher Produktion. Da ein signifikanter Teil des finanziellen Aufwands nicht nur durch die Prozessmedien selbst, sondern auch durch die Investmentkosten der Gerätschaften und deren Reinigung nach jedem Produktionseinsatz entsteht, bieten kontinuierliche Anlagen einen großen Vorteil [Konstantinov 2015]. Durch diese werden für die gleiche Produktmenge kleinere Anlagen benötigt und auch der Reinigungsbedarf reduziert sich [Konstantinov 2015, Subramanian 2018]. Für die kontinuierliche Produktion ändern sich wiederum die Anforderungen an die jeweiligen Grundoperationen. Neben der Langzeitstabilität der Separationsmethoden muss in einem vollkontinuierlichen Prozess ebenfalls gewährleistet sein, dass die Grundoperationen kontinuierlich die Eduktströme aufzunehmen sowie kontinuierlich Produktströme generieren zu können. Zusätzlich muss es möglich sein kritische Qualitätsattribute inline, ohne Probenziehen zu bestimmen [Subramanian 2018].

2.2 Membranverfahren

Im folgenden Kapitel werden Grundlagen für Membranprozesse erklärt und zusätzlich unterschiedliche Anwendungsbereiche, Aufbauten, Fahrweisen präsentiert.

2.2.1 Grundlagen und Klassifizierung

Bei den in dieser Arbeit betrachteten Membranen handelt es sich gemeinhin um semipermeable Polymerschichten, mit denen sich Stoffgemische separieren lassen. Historisch wurden erste systematische Studien zu Membranen bereits im 18. Jahrhundert durchgeführt. Dennoch dauerte es noch knapp 200 weitere Jahre, bis Membranverfahren auch industrielle Anwendung fanden und nicht nur in der Forschung untersucht wurden. Zwar waren bis 1960 die hierfür notwendigen Elemente weitgehend entwickelt, dennoch wurden Membranprozesse industriell selten eingesetzt, da diese als zu unzuverlässig, langsam, unselektiv und teuer eingeschätzt wurden. Erst in den letzten 40 Jahren wurden diese Barrieren überwunden und sind seither aus den modernen Prozessen nicht mehr wegzudenken [Baker 2012].

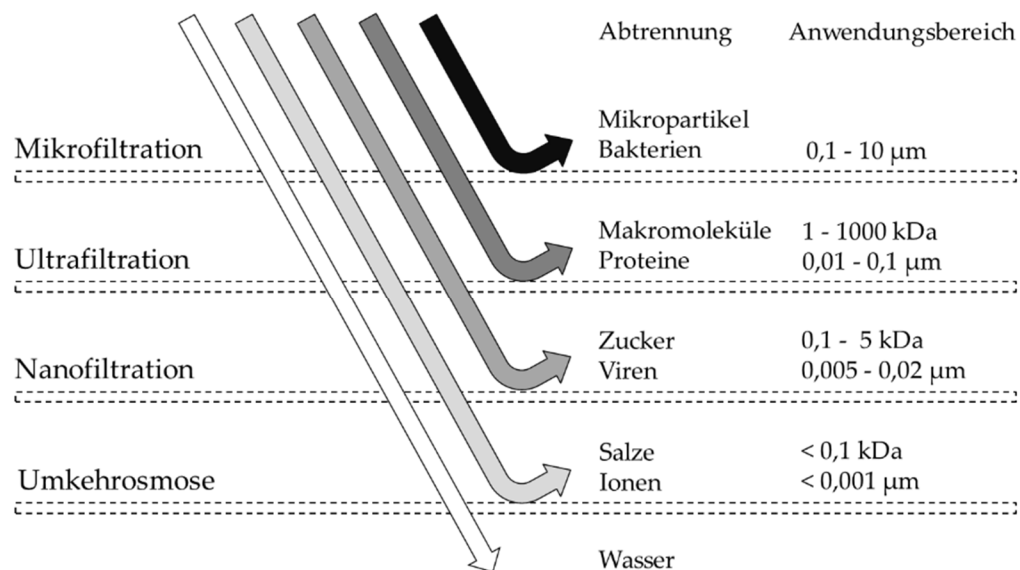
Bezüglich der Herstellung von Membranen lassen sich verschiedene Arten klassifizieren. Zum einen gibt es Variationen der Materialien, zum anderen ist auch die Struktur der Membran unterschiedlich. Als Materialien kommen hauptsächlich unterschiedlicher Polymere wie Polyethersulfon (PESU) oder auch regenerierte Cellulose zum Einsatz. Weiterhin existieren äußerst hitzebeständige Membranen aus Keramik oder aus Metall. Die Strukturen wiederum variieren zwischen symmetrischen Membranen, die einerseits porös und andererseits dicht sind. Ebenfalls gibt es unsymmetrische Membranen, bei denen die Porengröße in Flussrichtung des Permeats abnimmt. Bei sogenannten Kompositmembranen liegen zwei unterschiedliche Polymere aufeinander. Hierbei wird zu einer aktiven Membran eine zweite Membran hinzugefügt, um die mechanische Struktur zu verbessern. Zusätzlich können Membranen elektrisch geladen oder mit Flüssigkeit gefüllt sein [Baker 2012].

Zusätzlich zur Struktur der Membranen lassen sich unterschiedliche Membranverfahren aufgrund ihrer Triebkräfte, ihres Trennmechanismus und des Aggregatzustand des Mediums unterscheiden. Eine genauere Charakterisierung ist in der nachfolgenden Tabelle 2.1 aufgelistet [Melin 2007].

Tabelle 2.1: Klassierung von Membranverfahren. Adaptiert nach [Melin 2007].

| Triebkraft | Trennmechanismus | Aggregatzustand | Membranverfahren |
|--------------------------------|-------------------------------------|---|-------------------------|
| Druckdifferenz | Siebmechanismus | flüssig /flüssig | Mikrofiltration |
| | | | Ultrafiltration |
| | | | Nanofiltration |
| | | | Umkehrosmose |
| Partialdruckdifferenz | Sorption + Diffusion | flüssig/gasförmig gasförmig/gasförmig gasförmig/gasförmig | Pervaporation |
| | Sorption + Diffusion + Flüchtigkeit | | Dampfpermeation |
| | | | Gaspermeation |
| | | | |
| Konzentrationsdifferenz | Sorption + Diffusion | flüssig /flüssig | Dialyse |
| | | | Diffusionsdialyse |
| | | | Elektrodialyse |
| Elektrische Potentialdifferenz | Elektrophoretische Mobilität | flüssig /flüssig | Bipolare Elektrodialyse |

Diese Arbeit fokussiert sich wiederum auf die porösen Polymermembranen, die mittels Druckdifferenz flüssige Medien auftrennen. Daher erfolgt in Abbildung 2.2 eine Visualisierung der Einsatzbereiche der unterschiedlichen druckgetriebenen Filtrationsmethoden. Zusätzlich werden Beispielsubstanzen genannt, die sich mithilfe des jeweiligen Verfahrens zurückhalten bzw. abtrennen lassen.

**Abbildung 2.2:** Klassifizierung von Druck-basierten Filtrationsmethoden und deren Anwendungsgebiete.

Adaptiert nach [Cheryan 1998].

Zu erkennen ist, dass grobe Substanzen wie beispielsweise Zelltrümmer oder auch Bakterien von Mikrofiltrationsmembranen zurückgehalten werden. Die nächstkleinere Stufe stellt die Ultrafiltration dar, mit der es möglich ist, Makromoleküle wie Proteine zurückzuhalten. Um noch

kleinere Substanzen herauszufiltern, wird die Nanofiltration verwendet. Diese überlappt hingegen einerseits mit den Bereichen von Ultrafiltration und Umkehrosmose, andererseits ändert sich über den Anwendungsbereich der dominierende Vorgang von Porenfiltration zu Sorption und Diffusion. Mit der Umkehrosmose werden die kleinsten Substanzen wie Salze zurückgehalten. [Melin 2007]

2.2.2 Einsatzbereiche in biotechnologischen Prozessen

In biotechnologischen bzw. pharmazeutischen Produktionen werden Membranverfahren an vielerlei Positionen im Prozess eingesetzt. Durch ihre geringen Kosten und den milden Prozessbedingungen eignen sich diese Prozesse für den Umgang mit sensiblen Produkten [Charcosset 2012, Fröhlich 2012, Grote 2011, Grote 2012, Melin 2007, Teske 2010, van Reis 2007]. In einem typischen biotechnologischen Prozess, wie er in Abbildung 2.3 exemplarisch dargestellt ist, werden vielerlei Aufgaben von Membranoperationen erledigt [Jungbauer 2013].

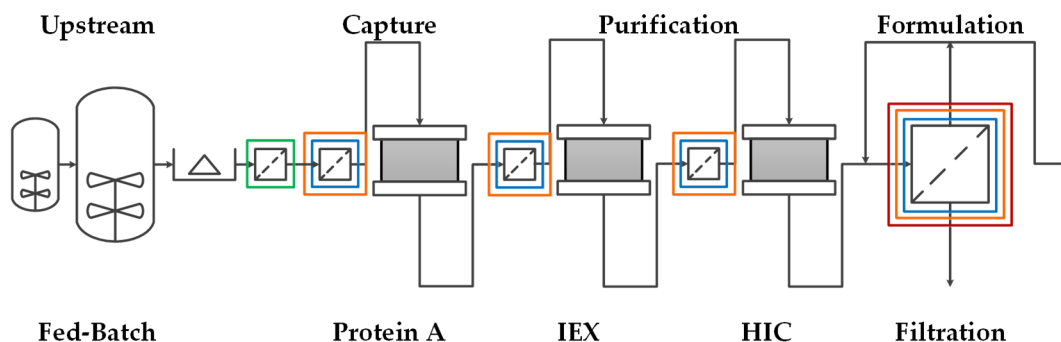


Abbildung 2.3: Filtrationsanwendungen in einem Plattformprozess: Abtrennung von Feststoffen (grün), Konzentrationserhöhung (blau), Mediumswechsel (orange), Virusentfernung (rot).

Die Abtrennung von Zelltrümmern aus der Fermentation sowie die Sterilisierung von Flüssigkeiten wird in solchen Prozessen bevorzugt mittels Mikrofiltration erreicht. Weiterhin ist in einem solchen Prozess die Ultrafiltration notwendig. Einerseits wird diese, wie in der Abbildung zu erkennen ist, verwendet, um die Wirkstoffkonzentration zu erhöhen, andererseits wird das Umgebungsmedium mit dieser getauscht (Diafiltration). Bei beiden Varianten wird das Zielprodukt von der Membran zurückgehalten, lediglich wird bei der Diafiltration neues Medium hinzugegeben [Jungbauer 2013]. Diese Anpassung dient dem Prozess, um die

anschließenden Produktionsschritte zu optimieren, da deren Effizienz auch maßgeblich mit der Proteinkonzentration korreliert. Zusätzlich werden für einige Grundoperationen wie beispielsweise der Chromatographie bestimmte Umgebungsmedien benötigt, damit der Prozessschritt überhaupt ablaufen kann [Guiochon 2006, Unger 1994]. Für den finalen Prozessschritt, der Formulierung, können drei unterschiedliche Prozessaufgaben mittels Filtration erreicht werden. Neben der Konzentrationseinstellung und dem Wechsel auf den Lagerungspuffer ist eine Virusabtrennung mittels Nanofiltration ebenfalls möglich [Jungbauer 2013]. Der Fokus dieser Arbeit liegt auf der Konzentrationserhöhung mittels Ultrafiltration.

2.2.3 Betriebsarten der Filtration

Allgemein lassen sich Filtrationen in zwei unterschiedliche Betriebsweisen unterscheiden, die in der nachfolgenden Abbildung 2.1 schematisch dargestellt sind.

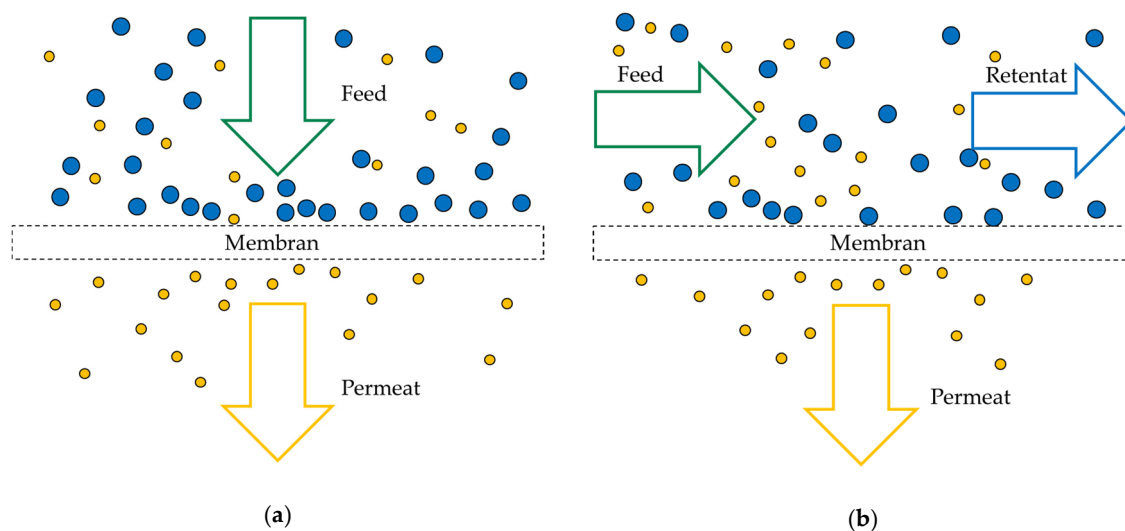


Abbildung 2.4: Schematische Darstellung von Filtrationsbetriebsweisen: (a) Normalflussfiltration (b) Tangentialflussfiltration. Adaptiert nach [Charcosset 2012].

Wie auf der obenstehenden Abbildung zu erkennen ist, besitzt die Normalflussfiltration, auch Dead-End-Filtration genannt, lediglich eine Flussrichtung. Diese verläuft senkrecht durch die Membran, sodass auch nur ein Feed- und ein Permeatstrom existieren. Für den Einsatz dieser Variante muss das Zielprodukt im Permeat vorliegen, da nur ein Ausgangsstrom existiert. Die zurückgehaltenen Nebenkomponten bilden wiederum über die Zeit eine Deckschicht auf, die

die Filtrationsleistung reduzieren oder den Arbeitsdruck erhöhen und final in einer Verblockung enden können. Diese Problematik, kann beispielsweise mittels Rückspülung der Membran behoben werden. Vor allem wird diese Betriebsweise im Bereich der Mikrofiltration verwendet, unter anderem bei Spritzenvorsatzfiltern oder Filterkerzen [Melin 2007]. Bei dieser Betriebsart werden oftmals Filterkaskaden oder asymmetrische Membranen verwendet, um ein Verblocken zu verzögern. Im Bereich kleinerer Poren, wie beispielsweise Ultrafiltration, kommt hingegen die Tangentialflussfiltration (vgl. Abbildung 2.5b) primär zum Einsatz. Bei dieser verläuft die Flussrichtung des Permeats orthogonal zu der des Feeds bzw. Retentats. Durch das Überströmen der Membran wird eine Kuchenbildung deutlich reduziert, wodurch der Flux, also der Permeatstrom, deutlich zeitstabiler wird [Cheryan 1998].

Neben diesen Filtrationsarten existieren ebenfalls unterschiedliche Varianten der Stromführungen von Feed, Retentat und Permeat, die in Abbildung 2.5a-c genauer gezeigt werden.

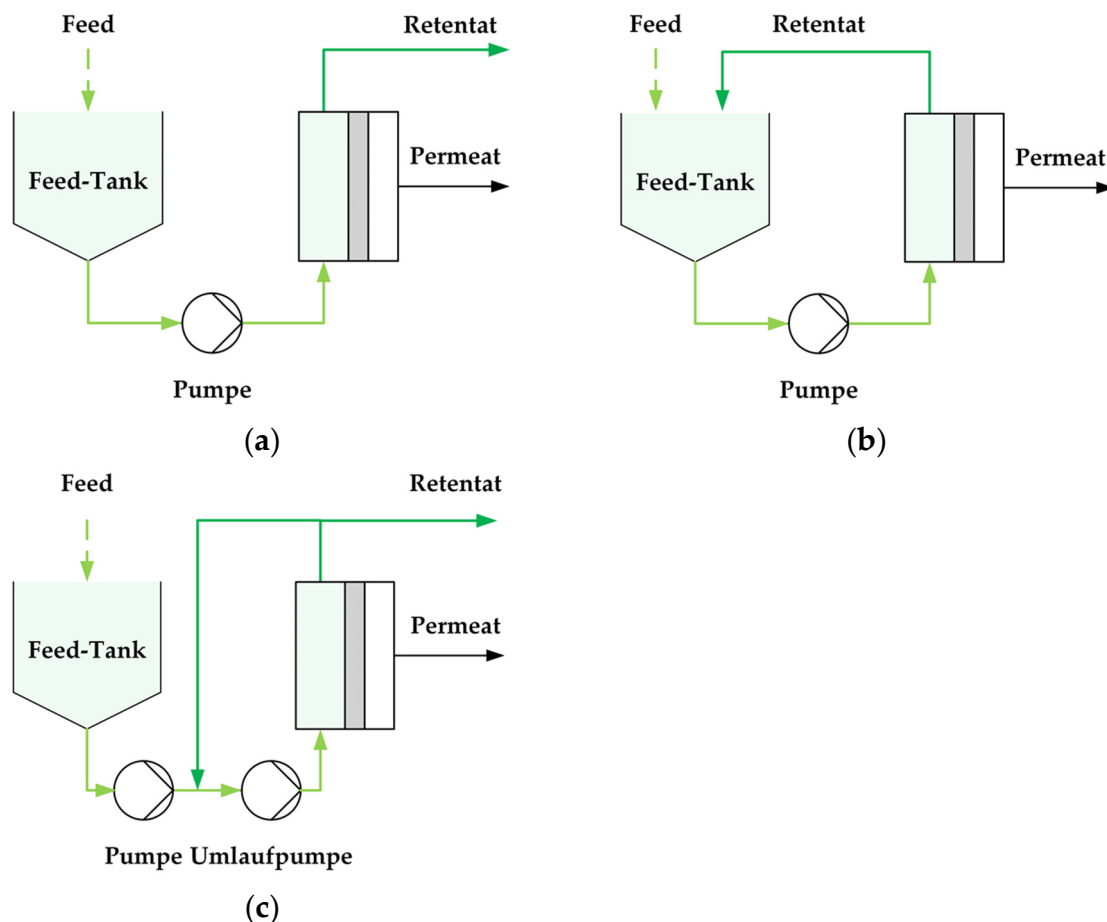


Abbildung 2.5: Schematische Aufbauten Ultrafiltration (a) Single-Pass Tangentialflussfiltration (b) TFF mit Rückführung des Retentatstroms (c) „Feed and bleed“. Adaptiert von [Huter 2019b, Jungbauer 2013].

Der einfachste Aufbau ist die „Single-Pass“ Tangentialflussfiltration (SPTFF). Hierbei wird mittels einer Pumpe das Feed in das Membranmodul befördert und es entstehen Retentat- und der Permeatstrom. Dadurch, dass dieses Verfahren nur eine Überströmung der Membran vorsieht, ist der Wirkungsgrad mit diesem Aufbau gering [Jungbauer 2013]. Aus diesem Grund wird in absatzweise durchgeführten Prozessen oftmals der Retentatstrom in den Feed-Tank zurückgeführt, wodurch das Membranmodul effizienter ausgenutzt wird [Jungbauer 2013]. Eine weitere Möglichkeit, die in c dargestellt ist, ist der „Feed and Bleed“-Aufbau, bei dem der Retentatstrom partiell zurückgeführt wird. Im Vergleich zu den anderen Aufbauten wird hierfür aber eine zusätzliche Umlaufpumpe benötigt, was die Kosten des Prozesses erhöht [Cheryan 1998, Jungbauer 2013].

2.2.4 Kontinuierliche Ultrafiltration

Die Verblockung von Membranen stellt eine große Problematik für kontinuierliche Betriebsweisen dar. Aus diesem Grund wird im Falle der Filtration oft mit mehreren Filtern im Wechsel gearbeitet [Jungbauer 2013]. Die in Abbildung 2.5a und c dargestellten Varianten lassen sich hingegen auch kontinuierlich betreiben. Da im Falle des „Feed and Bleed“-Aufbaus das Retentat aber partiell recycelt wird, erhöht sich die Verweilzeit des Zielprodukts. Zusätzlich wird das Molekül mehrfach durch Pumpen gefördert, was eine Denaturierung oder Aggregation von Proteinen hervorrufen kann [Zydney 2016]. Für biotechnologische, sensitive Produkte und geringe Verweilzeiten ist demnach die SPTFF die rationalste Filtrationsvariante. Bei dieser muss dennoch die Filtrationsfläche erhöht werden, um eine hohe Konzentration erreichen. Dies wird erreicht, indem mehrstufige Filtrationsaufbauten zum Einsatz kommen (siehe Abbildung 2.6).

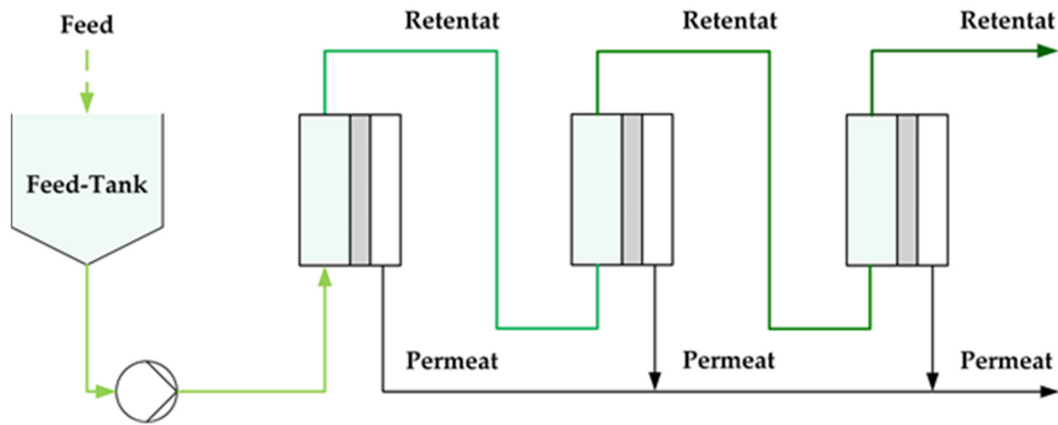


Abbildung 2.6: Schematischer Aufbau einer mehrstufigen Single-Pass Tangentialflussfiltration.

Adaptiert von [Huter 2019b].

Im Vergleich zur standardmäßigen Batchfiltration wechselt die Bezugsgröße von Zeit zu Filtrationsstrecke, da kein Recycling stattfindet. Bei einer solchen Filtrationsweise ist es weiterhin möglich, parallele Membranmodule in den unterschiedlichen Stufen zu verwenden. Durch die Verteilung der Ströme kann hierbei ein großer Druckverlust vermieden und ein größeres Permeatvolumen erzielt werden. Mit reduziertem Volumenstrom sinkt zusätzlich die Anzahl der notwendigen parallelen Module. Mit solch einer mehrstufigen SPTFF kann ein volumetrischer Konzentrationsfaktor von 2x bis 5x in einem kleinen, 4-Stufigen Modul zu erreichen [Dizon-Maspat 2012]. Auf diese Weise ist es möglich, den monoklonalen Antikörper IgG auf eine Konzentration von 225 g/L zu erhöhen [Alford 2008].

Eine mehrstufige SPTFF kann ebenfalls als Diafiltrationsschritt verwendet werden. Hierfür werden nach den einzelnen Filtrationsstufen Pufferströme hinzugefügt, wie in Abbildung 2.7 skizziert ist.

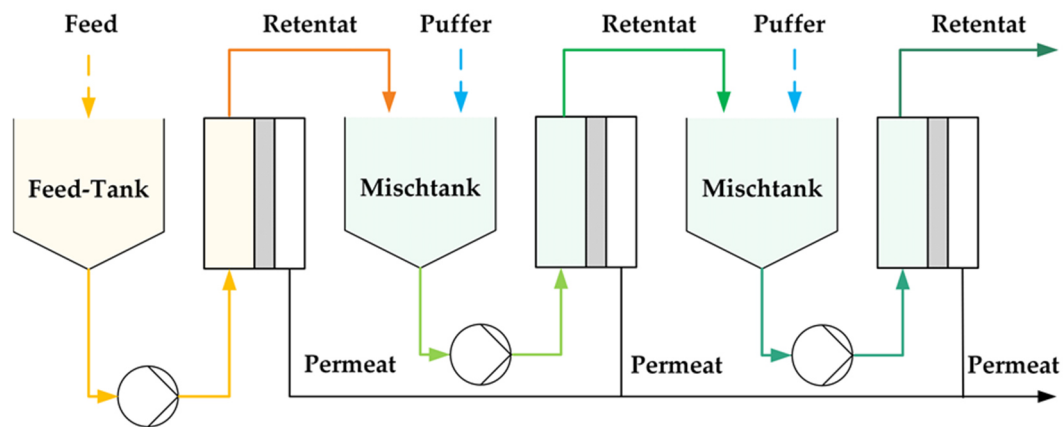


Abbildung 2.7: Schematische Darstellung einer kontinuierlichen Diafiltration. Adaptiert nach [Jungbauer 2013].

Nach jeder Stufe wird Puffer zum Retentatstrom hinzugegeben und beide Ströme gemischt [Rucker-Pezzini 2018]. Die skizzierten Tanks wiederum sind nicht zwingend notwendig, lediglich ist eine komplette Durchmischung beider Ströme zu gewährleisten. Trotz des deutlich komplexeren Aufbaus im Vergleich zu den standardmäßigen Batchvarianten, bietet dieser SPTFF-Aufbau viele Vorteile. Vor allem die verringerte Scherrate durch drastisch reduzierte Pumpwege des Zielprodukts und ebenfalls ein reduzierter Pufferverbrauch spricht für diese Art der Ultra- bzw. Diafiltration [Nambiar 2018].

2.2.5 Filtrationsmodule

In biotechnologischen Prozessen werden für die Ultrafiltration hauptsächlich verklebte Filtrationskassetten eingesetzt. Schematisch ist ein solches Modul in Abbildung 2.8 gezeigt.

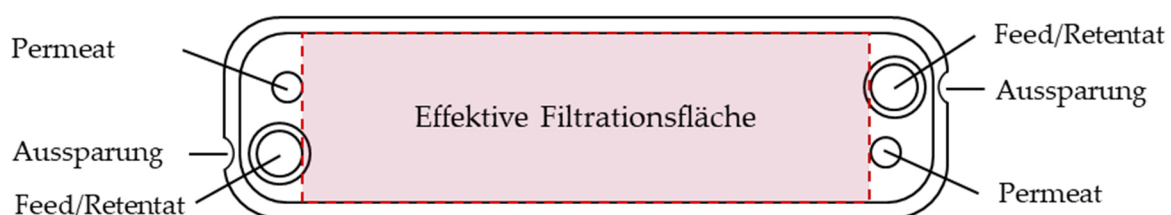


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung einer Filtrationskassette.

Zu sehen ist eine rechteckige Fläche mit abgerundeten Ecken. Auf dieser sind jeweils diagonale versetzte Anschlüsse für das Permeat und das Feed/Retentat. Zusätzlich sind Aussparungen eingebracht, die es ermöglichen die Kassette im zugehörigen Membranhalter zu fixieren. In einen

solchen Membranhälter können mehrere parallel zueinander liegende Kassetten eingebracht werden, die entweder selbstdichtend sind oder mittels Dichtungen voneinander getrennt werden. Der Bereich zwischen den Anschlüssen wird in dieser Arbeit als die effektive Filtrationsfläche angesehen. Diese Art von Kassetten bestehen mindestens aus einem Feedkanal mit jeweils zwei Permeatkanälen. Es existieren aber auch andere Bauformen, welche zum einen andere Maße aufweisen oder mehr Feed- bzw. Permeatkanäle besitzen. Der innere Querschnitt einer einfachen Kassette ist in der nachfolgenden Abbildung 2.9 dargestellt.

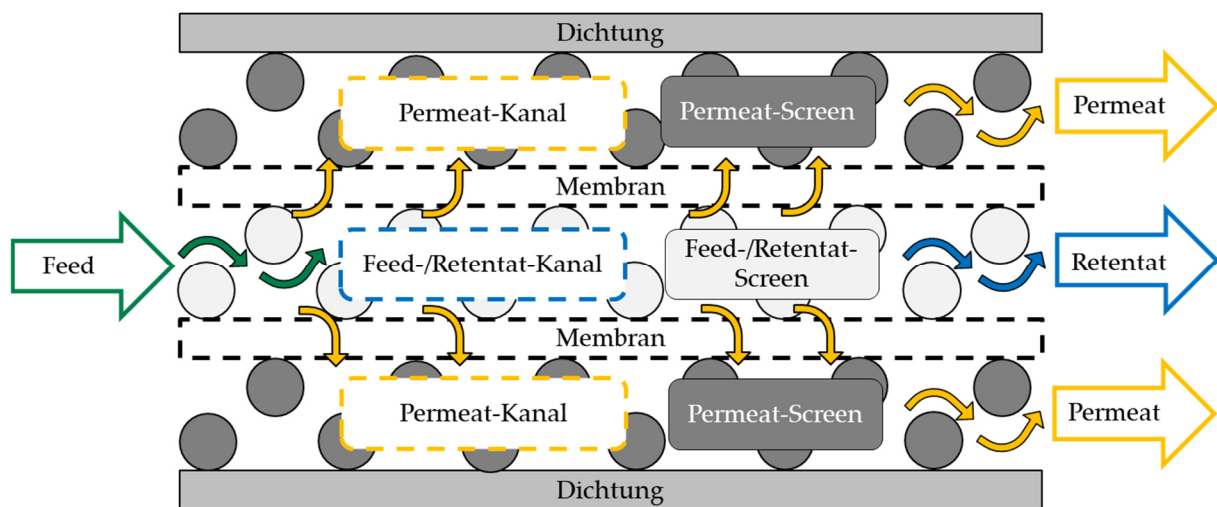


Abbildung 2.9: Schematischer Querschnitt einer Membrankassette. Adaptiert nach [Thiess 2017].

Zwischen den Membranen sind Screens (auch Spacer genannt) inseriert. Diese halten den Abstand zwischen den Membranen und führen zusätzlich zu einer turbulenten Strömung innerhalb des Kanals, was die Grenzschichtbildung reduziert [Da Costa 1994]. Diese Spacer können sowohl direkt mit der Membran verbunden sein, als auch lose im Kanal vorliegen, wie für beispielsweise hochviskose Medien [Thiess 2017]. Eine Draufsicht des Screens ist in Abbildung 2.10 dargestellt.

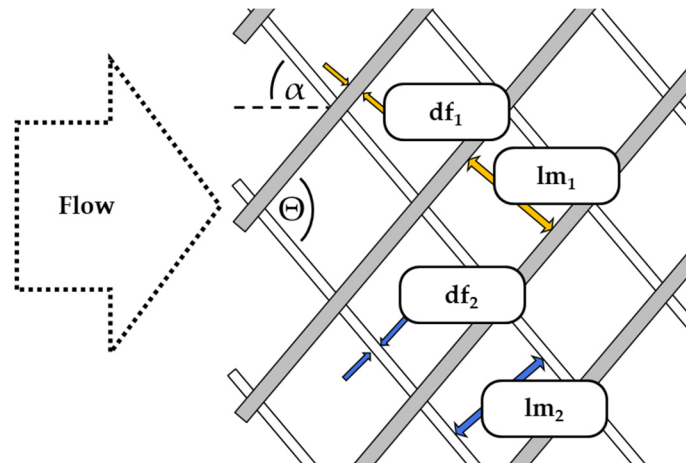


Abbildung 2.10: Geometrische Charakteristiken des Screens. Adaptiert nach [Da Costa 1994, Thiess 2017].

Zu erkennen ist ein Polymernetz, welches aus zwei unterschiedlichen Fäden bestehen kann. Charakterisiert wird es durch den Anströmwinkel α , den Winkel zwischen beiden Fäden Θ sowie die Abstände (lm_1 & lm_2) und Durchmesser (df_1 & df_2) der Fäden.

2.3 Kristallisation

2.3.1 Grundlagen

Die Kristallisation ist ein zweistufiges Verfahren, um Festkörper aus einer fluiden Phase zu generieren. Zunächst werden bei diesem Verfahren Kristallkeime gebildet, die anschließend wachsen können [Matz 1969]. Im Gegensatz zur Präzipitation entstehen hierbei sich regelmäßig wiederholende, geordnete Raumgitter, welche den Festkörper aufbauen [Atkins 2006]. Die Kristallisation kann daher im Prozess sowohl für die Formulierung eingesetzt werden, als auch zur Aufreinigung eines Zielprodukts [Hofmann 2004]. Generell lässt sie sich in Kühlungs-, Verdampfungs-, Verdrängungs- und Reaktionskristallisation einteilen, wobei sich die Kategorie nach der Art des Übersättigungsvorgangs richtet [Mersmann 2005b]. Zusätzlich kann eine weitere Einteilung durch die vorliegende fluide Phase durchgeführt werden. Dementsprechend ist die Kristallisation aus einer Schmelze, aus der Lösung oder aus der Gasphase möglich [Hofmann 2004]. Der in dieser Arbeit betrachtete Fall, aus einer Lösung, erfolgt dabei entweder durch Abkühlung, Verdampfung oder durch Anlegen eines Vakuums. Weiterhin besteht bei dieser Kristallisation die Möglichkeit der Zugabe eines Hilfsstoffs, was bei Verfahren wie der beispielsweise Fällungskristallisation oder dem Aussalzen angewendet wird [Sattler 2001]. Der Kristallisationsvorgang ist exotherm und demnach wird dabei die Kristallisations- bzw. Schmelzenthalpie frei wird [Sattler 2001]. Die Einflussfaktoren der Kristallisation werden unterschieden in stoffabhängige Faktoren (Löslichkeit, Kinetik etc.) sowie in verfahrensabhängige Faktoren (Strömungsführung, Verweilzeit etc.). Von diesen Faktoren werden Parameter wie z.B. Reinheit, Größe oder Partikelgrößenverteilung (PGV) der gebildeten Kristalle beeinflusst [Mersmann 2005a]. Eine typische Prozesskette für einen Kristallisationsschritt umfasst nicht nur das Entstehen der Kristalle, sondern erfolgt oft nach dem in Abbildung 2.11 aufgetragenen Schema.

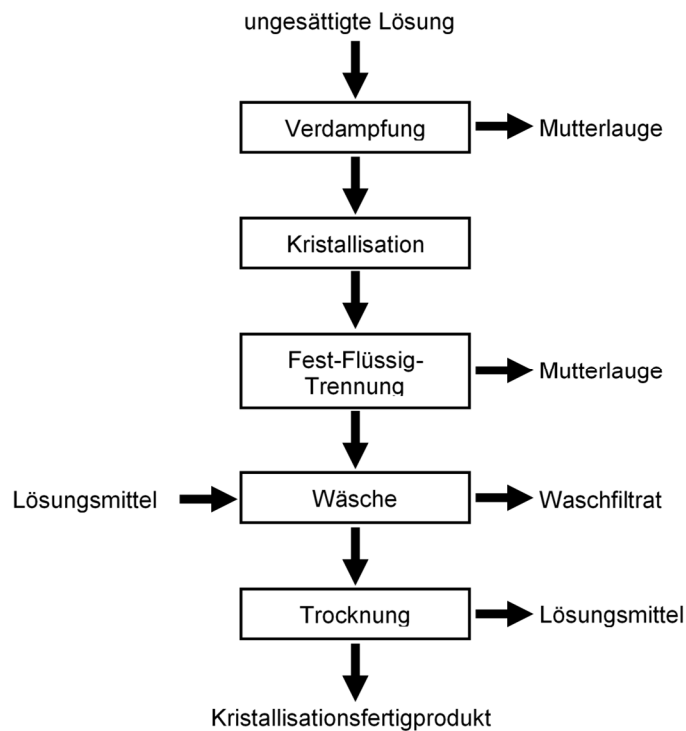


Abbildung 2.11: Beispiel eines Kristallisationsverfahrens. Adaptiert nach [Sattler 2001].

Damit eine Kristallisation durchgeführt werden kann, muss die Lösung unter Umständen vorbehandelt werden. Beispielsweise kann in einem ersten Schritt das Lösungsmittel durch Verdampfen entfernt werden, um die Zielkomponente aufzukonzentrieren. Nach dem eigentlichen Kristallisationsschritt werden noch weitere Verfahren zur Abtrennung des Lösungsmittels von den Kristallen benötigt (vgl. Abbildung 2.11). Zunächst wird der Großteil der Mutterlauge beispielsweise durch Sedimentation, Filtration oder Zentrifugation abgetrennt. Um die restliche Flüssigkeit und anhaftende Verschmutzungen zu entfernen, kann eine Wäsche oder Trocknung folgen [Sattler 2001].

2.3.2 Einsatz in biotechnologischen Prozessen

Hochreine Substanzen aus natürlichen Quellen wie Pflanzen werden für die verschiedensten Krankheiten angewendet. Zusätzlich gibt es durch die hohe gesellschaftliche Akzeptanz pflanzenbasierender Medikamente eine kontinuierlich steigende Nachfrage nach solchen Produkten [Ditz 2017, Kassing 2012]. Um diese Substanzen auf die gewünschte Reinheit zu bringen, werden diverse Prozessschritte verwendet. Begonnen wird hierbei typischerweise mit einer fest-flüssig Extraktion als Capture Schritt, gefolgt von flüssig-flüssig Extraktion und

Chromatographie. An diese schließt final die Kristallisation an [Both 2015, Koudous 2017, Sixt 2016]. Ein exemplarisches Schaubild ist in Abbildung 2.12 gezeigt.

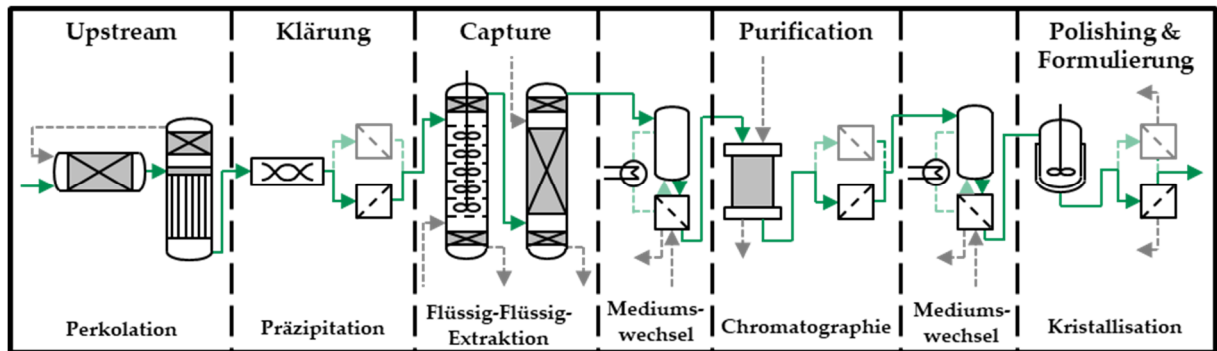


Abbildung 2.12: Typisches Prozessdesign für pflanzliche Produkte. Adaptiert nach [Sixt 2017].

Die Kristallisation nimmt in solchen Prozessen einen Isolierungsschritt ein, der für die folgenden Formulierungsschritte vorbereitet. Dies ist der Fall für diverse pflanzenbasierter Produkte bzw. semi-synthetischer Prozesse, so auch für den in dieser Arbeit behandelten Fall der Artemisinin-Aufreinigung [Chemat 2015, ElFeraly 1990, Harjo 2004, Kumar 2004, Lévesque 2012, Liu 2011, Lorenz 2011, Malwade 2013a, Malwade 2013b, Malwade 2016, Tu 2017, Turconi 2014]. Artemisinin ist eine organische Substanz, welche als Medikament für die Malaria-Krankheit eingesetzt wird und aus dem einjährigen Beifuß (*Artemisia annua* L.) gewonnen wird.

Für die Kristallisation stellen sich hier deutliche Herausforderungen hinsichtlich der Stabilität der Kristalle. Artemisinin bildet in kristalliner Form zwei Polymorphe. Zum einen eine triklinische, zum anderen eine orthorhombische Form, die bei Temperaturen unter 130 °C dominant ist [Chan 1997]. Durch diese nadelförmigen Kristallstrukturen sind die Partikel sehr sensibel hinsichtlich Bruch und Abrieb.

2.3.3 Löslichkeit und Übersättigung

Die Löslichkeit ist die treibende Eigenschaft in der Kristallisation. Sie entspricht der Menge eines Stoffes, die in einem Lösungsmittel maximal im Gleichgewicht gelöst werden kann. Hat ein Lösungsmittel die maximale Menge der Komponente aufgenommen, wird dies als gesättigter Zustand bezeichnet. Thermodynamisch bedeutet dies, dass die chemischen Potenziale des Feststoffes und des gelösten Stoffs gleich groß sind [Myerson 2002]. Damit ein Feststoff aus einer

Lösung abgeschieden werden kann, muss das System durch eine gezielte Übersättigung in seinem Gleichgewichtszustand der ungesättigten Lösung gestört werden. In diesem Zustand der Übersättigung liegt mehr gelöste Substanz in der flüssigen Phase vor, als vom Lösungsmittel aufgenommen werden kann. Die Wiederherstellung des Gleichgewichtszustandes erreicht die Lösung durch einen Übersättigungsabbau [Myerson 2002]. Die Übersättigung kann hierbei entweder durch das Ausscheiden vieler, kleiner Kristallkeime oder durch Wachstum bestehender Kristalle abgebaut werden [Hofmann 2004]. Ein Gleichgewicht, bei dem die Auflösung und Auskristallisation zeitgleich vorliegen, stellt sich nach einer bestimmten Zeitspanne ein [Beckmann 2013]. In diesem Zustand kommt es weder zu einem signifikanten Wachstum noch zu einem Auflösen der Kristalle [Gnielinski 1993]. Wie bereits erwähnt, kann eine im Gleichgewicht befindliche Lösung durch Kühlung, Verdampfung oder durch das Anlegen eines Vakuums übersättigt werden [Sattler 2001]. In Abbildung 2.13 sind diese drei Verfahren der Übersättigungsbildung in einem Löslichkeitsdiagramm dargestellt.

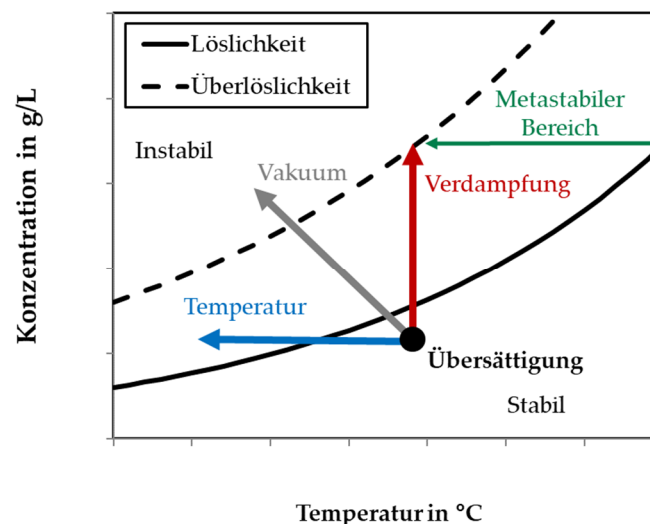


Abbildung 2.13: Kühlungs-, Vakuum-, und Verdampfungskristallisation im Löslichkeitsdiagramm. Adaptiert nach [Sattler 2001].

Die dabei entstehende Kurve wird als Löslichkeitskurve bezeichnet und ist dabei mittels diverser Messvarianten wie isothermer Exzessmethode oder polythermen Methoden detektierbar [Beckmann 2013]. Wird diese Löslichkeitskurve überschritten, ist das System übersättigt [Hofmann 2004]. Neben der Löslichkeitskurve ist die Überlöslichkeitskurve im

Löslichkeitsdiagramm eingetragen. Die Überlöslichkeitskurve stellt die Konzentration dar, bei der Kristallisationskeime entstehen und mittels polythermer Methoden detektiert werden können. Der Bereich zwischen den Löslichkeitskurven entspricht dem metastabilen Bereich, in dem Wachstum von Partikeln möglich ist, aber keine Keime entstehen. Abhängig ist dieser metastabile Bereich von diversen Parametern wie Stoffsystem, Rührertyp, Rührgeschwindigkeit oder Temperaturgradient [Bogacz 2014, Kim 2001, Liu 2015, Mohan 2002]. Auf Grund dieser Vielzahl von Einflussmöglichkeiten geht die Bestimmung des metastabilen Bereiches auf experimenteller Ebene mit vielen Fehlern und unzuverlässigen Resultaten einher [Ulrich 2002]. Kristallisationen werden industriell oftmals zwischen diesen beiden Kurven betrieben, da hiermit eine kontrollierte Prozessführung möglich ist [Sattler 2001]. Hierfür kommen weiterhin Impfpartikel zum Einsatz, die beispielsweise aus dem Produkt des vorherigen Kristallisationslaufs bestehen können [Hofmann 2004, Wieckhusen 2013]. Die am besten zu kontrollierende und daher meist genutzte Variante ist hierbei die Kühlungskristallisation, bei der die Temperatur verändert wird [Beckmann 2013, Hofmann 2004]. Diese wird auch im Rahmen dieser Arbeit untersucht. Die Verdampfungskristallisation eignet sich hingegen besser für Systeme, bei der die Löslichkeit geringfügiger mit der Temperatur korreliert [Hofmann 2004]. Eine Kombination aus Verdampfung und Abkühlung bildet die Vakuumkristallisation. Bei diesem Verfahren wird Lösungsmittel im Vakuum verdampft und gleichzeitig wird die verbleibende Lösung abgekühlt. Dieses Kristallisationsverfahren wird vor allem bei Komponenten eingesetzt, die eine thermische Instabilität vorweisen [Sattler 2001].

2.3.4 Primäre Keimbildung

Für die Bildung von Kristallen werden Keime benötigt. Diese Keimbildung lässt sich in die primär homogene, primär heterogene und sekundäre Keimbildung einteilen [Hofmann 2004]. Die primäre Keimbildung umfasst die Vorgänge, die keine bereits vorhandenen Kristalle benötigen. Dies ist zum einen die homogene, bei der Keime aus der Lösung entstehen, und zum anderen die heterogene Keimbildung, bei der Keime an der Oberfläche von Feststoffteilchen gebildet werden.

Die homogene Keimbildung lässt sich mithilfe der freien Gibbs-Energie beschreiben. Die Änderung der freien Gibbs-Energie ΔG für einen idealisierten, runden Keim setzt sich aus den

freien Energien ΔG_A und ΔG_V zusammen. ΔG_A beschreibt die Energie zur Erstellung neuer Grenzflächen und wird durch den Radius (r) und die Oberflächenspannung (σ) beeinflusst. ΔG_V entspricht der Energie, welche bei der Entstehung von Volumen abgegeben wird. Sie ist ebenfalls abhängig vom Radius und zusätzlich vom molaren Volumen (v) sowie von der chemischen Potentialdifferenz der Keime (μ_K) und dem gesättigten Lösungsmittel (μ_S) [Matz 1969].

$$\Delta G = \Delta G_A + \Delta G_V = 4 \cdot \pi \cdot r^2 \cdot \sigma - \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3 \cdot \frac{1}{v} \cdot (\mu_K - \mu_S) \quad 2.1$$

Die Verläufe für der Energien sind in der nachfolgenden Abbildung 2.14 qualitativ aufgetragen.

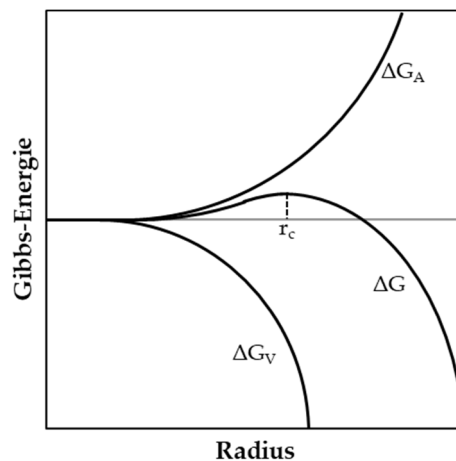


Abbildung 2.14: Änderung der Gibbs-Energie bei der Keimbildung in Abhängigkeit des Radius. Adaptiert nach [Hofmann 2004].

Es ist erkenntlich, dass die Änderung der Gibbs-Energie bei einem bestimmten kritischen Radius (r_c) ein Maximum aufweist. Keime, die diesen unterschreiten, lösen sich, wohingegen größere Keime anwachsen [Matz 1969]. Lagert sich einem Tropfenkeim mit kritischem Keimradius ein weiterer Baustein an, wird ein weiterwachsender Keim rechts des Maximums gebildet. Mit steigendem Radius nimmt hier die freie Enthalpie immer weiter ab [Gnielinski 1993]. Die Chance des weiteren Aufbaus ist größer als die des Zerfalls und es kann ein definierter Keim entstehen [Hofmann 2004].

Die Existenz von Feststoffteilchen in der Lösung reduziert die notwendige freie Energie zur Bildung der Kristalle. Diese Feststoffteilchen wirken somit ähnlich wie ein Katalysator und es

wird eine geringere Übersättigung des Systems benötigt, um Kristalle zu bilden [Hofmann 2004]. Diese Art der Keimbildung wird heterogene Primärkeimbildung genannt, wobei es irrelevant ist, ob der Feststoff aus der Zielkomponente selbst oder aus Fremdstoffen besteht [Myerson 2002]. Abhängig von der äußeren Struktur, lagern sich an dem Fremdkörper Kristallbausteine an. Hierbei kommt es zu einer Bildung eines Randwinkels zwischen der Oberfläche des Fremdstoffes und der des angelagerten Kristallkeimes [Mersmann 2005b]. Liegt dieser Winkel über dem Wert von 180° , wird die Fremdkörperoberfläche durch den entstehenden Kristall nicht benetzt. In diesem Fall erfolgt aufgrund der Punktberührung die Bildung homogener Keime bei einer größeren Übersättigung. Ist der Wert geringer, liegt eine Benetzung vor, wodurch weniger Energie zur Bildung einer neuen Oberfläche benötigt wird und damit auch schon bei geringeren Übersättigungen Keime gebildet werden [Gnielinski 1993]. Generell steigt die Anzahl der Keimbildung aber mit der vorherrschenden Übersättigung [Mullin 2001]. Die Anzahl der gebildeten heterogenen Keime wird dennoch durch eine begrenzte Fremdpartikelmenge eingeschränkt. Hierbei liegt das Maximum dieser Keime unter dem der der homogenen Keimbildung [Hofmann 2004].

2.3.5 Sekundäre Keimbildung

Neben der primären Keimbildung können Kristalle auch durch Abrieb und Bruch entstehen, was als sekundäre Keimbildung bezeichnet wird [Hofmann 2004, Mullin 2001]. Dabei wird zwischen Bruch und Abrieb unterschieden. Werden Sekundärkeime aus einem Kristall gebildet, die größer als $50\text{ }\mu\text{m}$ sind, entspricht dies Bruch. Der Abrieb eines Kristalles wird bei einer Keimbildungsgröße von 2 bis $40\text{ }\mu\text{m}$ zugeordnet [Ulrich 1981]. Die Sekundärkeimbildung ist von diversen Faktoren abhängig. Einer dieser Einflüsse ist die Suspensionsdichte, mit der der Bruch proportional steigt. Ebenfalls wird die Sekundärkeimbildung von dem mechanischen Eintrag durch ein Rührwerk oder einer Umwälzpumpe beeinflusst [Myerson 2002]. Der mechanische Eintrag führt zu einer vergrößerten Häufigkeit und Intensität von Zusammenstößen von Kristallen mit Bauteilen des Kristallisators [Mersmann 1997, Ulrich 1981]. Auch die Beschaffenheit der Kristalle besitzt einen Einfluss. Je größer die Kristalle sind, desto wahrscheinlicher wird der Aufprall auf die Rührwerksbauteile und der resultierende Bruch der Kristalle. Ebenfalls spielt sowohl die Härte der Kristallisatorbauteile, als auch die

Kristallbeschaffenheit eine Rolle [Ulrich 1981]. So neigen Kristalle, die gegen beispielsweise kunststoffbeschichtete Rührwerksbauteile stoßen, weniger zum Abrieb. Sofern Kristalle eine Oberfläche mit vielen Rändern und Ecken aufweisen, ist die Sekundärkeimbildung ebenfalls reduziert. Besitzt aber der Kristall durch eine mechanische Belastung von außen eine zunehmend abgerundete Struktur, wird dieser nochmals mehr zerrieben. Hierdurch wird eine sehr große Anzahl von kleinen Keimen aus dem Kristall gebildet [Ulrich 1981].

Das Vorhandensein vieler Sekundärkeime limitiert das Wachstum zu großen Kristallen, da die Kristalle nicht nur stetig zerkleinert werden, sondern der Abbau der Übersättigung auf die kleinen Kristalle verlagert wird [Liiri 2002].

Wie bei der Primärkeimbildung ist eine Abhängigkeit bei der Bildung der Sekundärkeime von der Übersättigung vorhanden. Die Bildung der sekundären Keime erfolgt aber bei einer niedrigeren Übersättigung im metastabilen Bereich. Hier müssen keine Grenzflächenenergien zur Bildung neuer Kristallbausteine und deren Oberflächen aufgebracht werden [Hofmann 2004]. Vor allem werden Kristallbausteine aus der eigenen Art mit einer ähnlichen Oberflächenstruktur herausgebrochen, die das Anwachsen der einzelnen kleinen Bausteine zu einem Keim energetisch weiter begünstigen [Mersmann 2005b].

2.3.6 Kristallwachstum

Neben der Entstehung von Kristallen wird die Übersättigung auch durch das generelle Wachstum der Kristalle abgebaut. Je größer die Übersättigung im System wird, desto größer wird die Massenzunahme des Kristalls in Abhängigkeit der Zeit [Beckmann 2013]. Auch ist das Wachstum der Kristalle von der Kristalloberfläche abhängig. Da durch eine vergrößerte Oberfläche immer mehr Kristallbausteine angelagert werden können [Gnielinski 1993]. Abhängig ist die Kristallisation einerseits vom konvektiv diffusiven Stoffübergang und dem Einbau der Substanz in den Kristall [Mersmann 2005a]. Kristalle wachsen, indem Moleküle an ihrer Oberfläche adsorbieren und Schichten bilden. Ebenso wie bei der Bildung von Kristallkeimen ist hierfür ein kritischer Radius benötigt, damit die Molekülzusammenschlüsse nicht wieder desorbieren. Die Kristallbausteine können sich auf der Oberfläche bewegen und richten sich nach der energetisch günstigsten Stelle aus [Myerson 2002]. Es sind hierfür drei Konstellationen möglich, die in der nachfolgenden Abbildung 2.15 Skizze abgebildet sind.

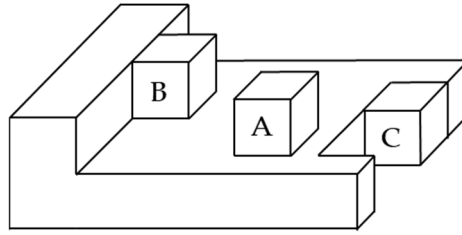


Abbildung 2.15: Oberflächenstruktur eines wachsenden Kristalls A) Kontakt nur mit der Grundfläche B) Kontakt mit der Grundfläche und der Fläche der nächsten Schicht C) Kontakt mit der Grundfläche und der Einkerbung der nächsten Schicht. Adaptiert nach [Hofmann 2004].

Aus energetischer Sicht ist die Position die günstigste, welche die meiste Kontaktfläche bereitstellt. Aus diesem Grund ist $C > B > A$. Für Kristalle ist es somit einfacher auf vorhandenen Stufen aufzubauen als neue Stufen zu bilden [Myerson 2002].

Das Wachstum der Kristalle ist über mehrere Methoden detektierbar. Hierbei wird unterschieden in Methoden für einen Einzelkristall und eine Kristallsuspension. Die einfachste und häufigste Herangehensweise ist die Messung der Übersättigungskurve in einem isothermen Batchexperiment. Sofern die Informationen der Konzentration und Löslichkeit bekannt sind, kann die Übersättigung über die Zeit aufgenommen und die Kinetiken bestimmt werden [Glade 2004, Myerson 2002]. Alternativen hierfür sind beispielsweise die dynamische Differenzkalorimetrie (engl.: *differential scanning calorimetry*, DSC) für kleine Kristallmengen oder die direkte Messung der Kinetik [Mohan 2000, Myerson 2002].

2.3.7 Agglomeration

Neben dem Kristallwachstum durch einen Übersättigungsabbau, können sich die Partikel auch durch Agglomeration vergrößern [Mersmann 2005b]. Unter der Ausbildung von Agglomeraten ist im Rahmen dieser Arbeit einerseits ein lockeres, zusammengestautes Kristallkollektiv, auch Aggregation genannt, und zum anderem fest aneinander angewachsene Partikel aufgrund von Feststoffbrückenbindungen zu verstehen [Hofmann 2004]. Damit Agglomerate entstehen können, müssen Einzelpartikel aufeinanderstoßen und sich zusammenlagern. Hierbei kommt es im Falle von Partikeln, die kleiner als $10\ \mu\text{m}$ sind, zur Ausbildung der anziehenden van der Waals Kraft und einer entgegengerichteten Kraft, der elektrostatischen Kraft jener Partikel [Mersmann

2005b]. Diese beiden Kräfte dürfen nach Hofmann aber nur bis zu einer Größe von kleiner als 10 µm herangezogen werden, da diese als eher klein angesehen werden. Bei größeren Agglomeraten, die in der Kristallisation öfters betrachtet werden, bilden sich die Feststoffbrückenbindungen zwischen den Kristallpartikeln aus [Hofmann 2004].

Schematisch ist der Agglomerationsvorgang in der nachfolgenden Abbildung 2.16 dargestellt.

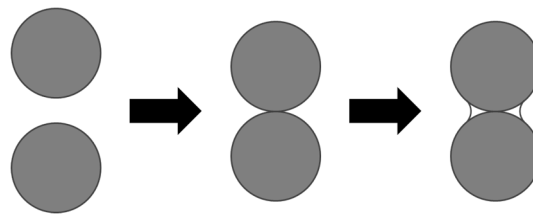


Abbildung 2.16: Verwachsene Feststoffbrückenbindung zweier Partikel. Adaptiert nach [Hofmann 2004].

Zwei Partikel kollidieren in einer Lösung und entwickeln mithilfe der anwachsenden Feststoffbrückenbindung ein zusammenhängendes Partikel. Für eine fest verwachsene Bindung zwischen zwei Aggregaten, muss in der Lösung eine gewisse Übersättigung vorliegen. Je größer diese wird, desto stärkere Feststoffbrückenbindungen entstehen, die wiederum zu stabileren und widerstandsfähigeren Partikeln führen [Hofmann 2004].

Die Form, Oberfläche und Größe der Kristalle besitzen einen maßgeblichen Einfluss auf die Kristallstruktur. Nach Warstat *et al.* ist die Tendenz zur Agglomeration mit steigender Kristallgröße geringer. Ein großgewachsener Kristall bildet weniger scharfkantige und mehr abgerundete Ecken aus, wodurch die Agglomeration behindert wird. Zusätzlich wirkt bei großen Aggregaten auch die Bruchwirkung durch ein Rührwerk der Agglomeration entgegen. Größere Agglomerate werden durch den mechanischen Eintrag zerschlagen und bilden wiederum kleinere Sekundärkeime [Warstat 2007].

2.3.8 Reinheit von Kristallen

Neben der Eigenschaft der Kristallisation Festkörper aus Lösungen zu erstellen, ist es auch möglich, die Kristallisation als Separationsmethode für ein Multikomponenten-gemisch zu verwenden [Beckmann 2013, Lucke 2018, Lucke 2019]. Dies bietet nicht nur finanzielle Vorteile, da die Kristallisation im Vergleich zu anderen Methoden deutlich geringere Betriebskosten

verursacht, sondern kann auch helfen Prozesse zu verschlanken. Zu diesem Zweck muss wiederum die Kristallisation hinsichtlich der Reinheit überprüft werden. Die Reinheit des Produkts aus der Kristallisation kann prinzipiell durch zwei Möglichkeiten verändert werden. Das erste ist das Auskristallisieren einer Nebenkomponeute, welche ebenfalls übersättigt in der Lösung vorliegt. Die zweite Variante ist beschreibt Zustände bei der Mutterlauge im Produkt enthalten ist. Diese kann, sofern diese die Kristalle lediglich umgibt, durch Waschschrirte entfernt werden. Zusätzlich kann aber ein Einbau der Mutterlauge in den Kristall stattfinden, wodurch sie nicht herausgewaschen werden kann. Diese Kristalleinschlüsse lassen sich in zwei unterschiedliche Typen unterscheiden, welche in Abbildung 2.17 skizziert sind [Saito 2001].

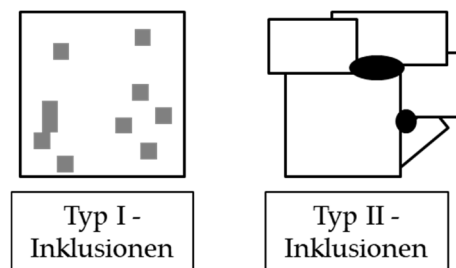


Abbildung 2.17: Graphische Darstellung von Einflüssen. Adaptiert nach [Saito 2001].

Typ I entspricht hierbei Einbauten in die Kristallstruktur, die nicht nur die Reinheit des Kristalls herabsenkt, sondern auch Einfluss auf das Wachstum der Kristalle besitzen kann [Myerson 2002, van Enckevort 1996, YANG 2014]. Damit eine Unreinheit eingebaut werden kann, muss hierfür eine Nebenkomponeute im Gitter eine Zielkomponente austauschen (vgl. Abbildung 2.18). Weichen die Größen dieser Moleküle stark voneinander ab, kann dies nur mit einer Änderung der Gitterstruktur einhergehen.

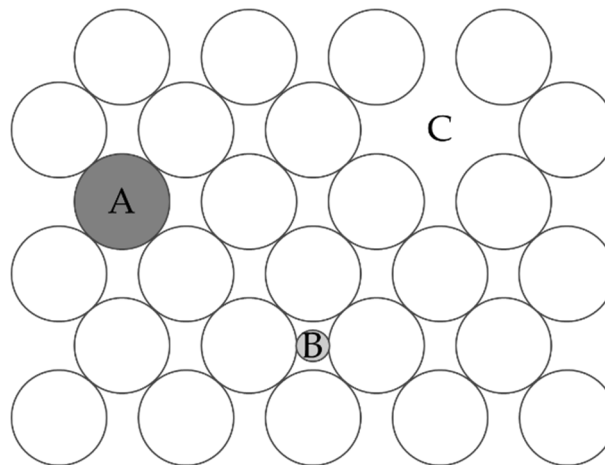


Abbildung 2.18: Einschlusstypen und Kristallfehler. Adaptiert nach [Myerson 2002].

Faktoren für diese Einflüsse sind ein hohes Kristallwachstum und ungleiche Übersättigungsverteilungen über die Kristalloberfläche. Weiterhin ist die Einschlusswahrscheinlichkeit abhängig von der Bildungsenthalpie des kristallinen Materials, der Viskosität und der thermischen Leitfähigkeit der Lösung sowie der Richtungsabhängigkeit der Kristallform [Myerson 2002].

Typ II Einschlüsse hingegen werden durch Agglomeration von Kristallen hervorgerufen (siehe Abschnitt 2.3.6). In den Räumen zwischen den Kristallen finden demnach Einlagerungen statt, die durch Waschen nicht zwingend zu entfernen sind [Saito 2001]. *Saito et al.* vermuten zusätzlich, dass große Kristalle mehr Einschlüsse besitzen als kleinere Kristalle. Sie sehen die Ursache hierbei in den erhöhten Kollisionen, die wiederum Typ I Einschlüsse fördern [Saito 2001]. Bei Kristallen aus wässrigen Lösungen können bis zu 1-2 % des Kristallgewichts aus Einschlüssen bestehen und damit die Reinheit signifikant beeinflussen [Myerson 2002].

Die Zusammensetzung des Feedmaterials, bzw. die NebenkompONENTEN kann einen starken Einfluss auf den Prozess besitzen. Dies betrifft sowohl die Löslichkeit als auch die Kinetik der Kristallisation. Aus diesem Grund müssen, sofern der Kristallisationsschritt auch die Reinheit erhöhen soll, auch die Einflüsse der kritischen NebenkompONENTEN bekannt sowie quantifizierbar bzw. detektierbar sein [Josch 2012, Malwade 2013a, Malwade 2013b, Malwade 2016, Myerson 2002, Qu 2010, Suberu 2014].

2.3.9 Prozessführung in der Kühlungskristallisation

Durch die diversen Einflüsse auf die Kristallisation lassen sich über die Betriebsweise die Kristalleigenschaften stark beeinflussen. Dabei sind insbesondere die Größe und die Verteilung der Kristalle von Interesse [Hofmann 2004]. Große Kristalle besitzen den Vorteil, dass der anhaftende Verunreinigungsanteil geringer ist. Ebenfalls sind sie mittels Filtration leichter von der Mutterlauge abtrennbar und können aufgrund der geringeren spezifischen Oberfläche besser getrocknet werden. Kleine Partikel bieten dagegen den Vorteil, dass sie besser für die Tablettierung von Pharmazeutika geeignet sind. Außerdem besitzen kleine Kristalle durch ihre größere spezifische Oberfläche eine schnellere Löslichkeit und eine bessere Reaktivität [Hofmann 2004].

Um die Partikelgrößenverteilung (PGV) besser zu kontrollieren, wird industriell mit Impfkristallen gearbeitet, die im metastabilen Bereich anwachsen [Mersmann 1997]. Hierbei wird darauf geachtet, dass die Konzentration nicht in die Nähe des instabilen Bereichs gelangt und es nicht zur Primärkeimbildung kommt [Myerson 2002]. Durch das Auftreten dieser wird die PGV nicht nur stark verschoben, sondern es kann zu Verkrustungen an der Wand des Kristallisators kommen, die eine schlechtere, undefinierte Wärmeübertragung zur Folge hätten [Gnielinski 1993]. Aus diesem Grund muss für den in dieser Arbeit betrachteten Fall der Kühlungskristallisation das Temperaturprofil mitbetrachtet werden. Wird ein zu großer, konstanter Temperaturgradient verwendet, kann es passieren, dass die aufgebaute Übersättigung nicht schnell genug durch die limitierten Keimoberflächen abgebaut wird und somit die Überlöslichkeitskurve passiert wird [Gnielinski 1993]. Um dies zu verhindern können parabolische Abkühlprofile, bei denen der Gradient über die Prozessdauer gesteigert wird, genutzt werden. Zusätzlich ist es auch denkbar die Prozesssteuerung nicht auf den Temperaturgradienten auszurichten, sondern die Übersättigung selbst zu steuern. Dies erfordert aber den Einsatz von Inline Messtechnik und die Kenntnis über Löslichkeiten im gewünschten System.

Auch der Bruch der Partikel und die damit einhergehende sekundäre Keimbildung lassen sich durch die Kontrolle der Übersättigung und des mechanischen Leistungseintrags beeinflussen. Dennoch darf die Rührintensität nicht beliebig klein gewählt werden, da Übersättigungsspitzen

oder inkonstante Wärmeübertragung zu einem undefinierten Prozess führen [Mersmann 2001]. Hinsichtlich des Bruchs besteht daher ein ständiges Abwägen zwischen einer zu hohen oder zu niedrigen Umwälzrate. Zusätzlich sind vor allem die Rührerarchitektur und die Strömungsverhältnisse eines der größten Problematiken bei der Maßstabsvergrößerung von Kristallisationsanlagen [Beckmann 2013].

3 Modellentwicklung

In diesem Kapitel wird zunächst das generelle Vorgehen zur Erstellung eines Modells gezeigt. Im Anschluss werden die notwendigen Formeln und Korrelationen für beide Grundoperationen dargestellt. Zusätzlich wird diskutiert, wofür die jeweiligen Modellbausteine benötigt werden, um die Grundoperationen abbilden zu können.

3.1 Modellunterstützte Prozessentwicklung

Prozessmodelle besitzen verschiedenste Einsatzmöglichkeiten. Sofern ihre Genauigkeit und Präzision durch Experimente belegt werden können, ist es mit ihnen nicht nur möglich Versuchsreihen zu optimieren, sondern es können zusätzlich modellbasierte Kontrollstrategien für den Prozess entwickelt werden. Zu diesem Zweck müssen die verwendeten Gleichungen alle möglichen Prozessparameter abdecken und damit einen stabilen Prozesspunkt vorhersehen können [Zobel-Roos 2019a].

Hierzu müssen im ersten Schritt die kritischen Qualitätsattribute und das Produktprofil definiert werden. Weiterhin müssen basierend auf Vorwissen und Literatur Risikoanalysen durchgeführt werden, welche beispielsweise durch Ishikawa-Diagramme visualisiert werden können. Auch wenn dies nicht direkt zum Modell selbst gehört, ist es ein Teil des QbD-Ansatzes. Zusätzlich hilft dieses Vorgehen dabei relevante Variablen zu detektieren. Während dies alles einen qualitativen Ansatz repräsentiert, fügt eine Risikoanalyse, welche die Effekte bezüglich Auftrittswahrscheinlichkeit und Auswirkung separiert, dem ganzen einen quantitativen Aspekt hinzu. Der generelle Ablauf zur Erstellung eines validen Modells zur Prozessentwicklung ist in Abbildung 3.1 visualisiert.

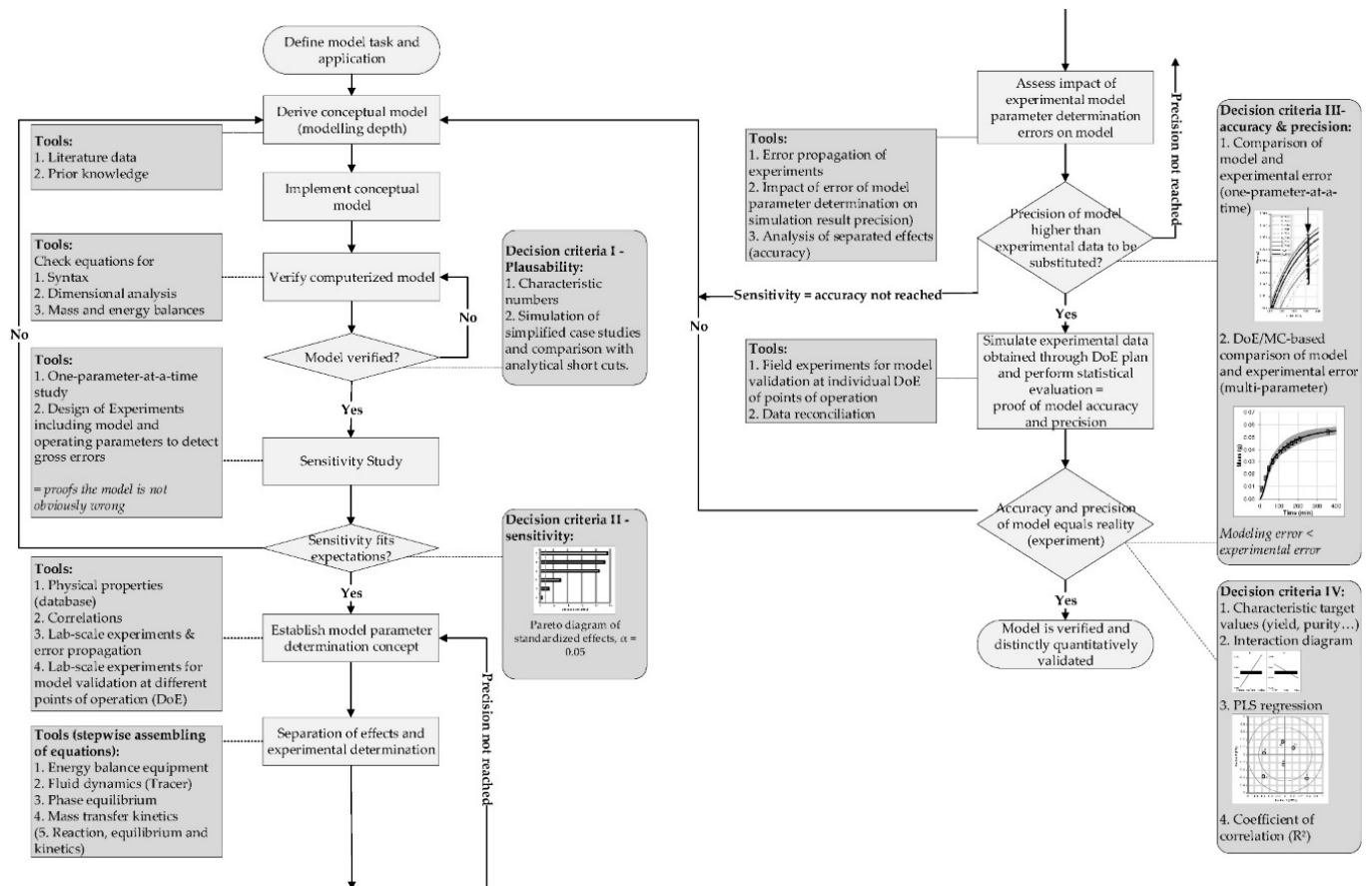


Abbildung 3.1: Arbeitsschritte zur Erstellung eines Prozessmodells nach [Sixt 2018c].

Schritt 1

Als erstes wird der Designspace, also der Arbeitsbereich definiert, in dem der Prozess stattfinden kann [Kornecki 2019, Schmidt 2019, Sixt 2017, Sixt 2018c, Zobel-Roos 2019b]. Hierunter fallen diverse Einflüsse wie beispielsweise Flussgeschwindigkeit und Druck, basierend auf der Pumpe einer UF oder die Prozessschwankungen der Nebenkompontenspektren. Dieser Arbeitsbereich wiederum definiert die Prozessvariablen, die das Modell reproduzieren muss. Im nachfolgenden Schritt müssen dann Gleichungen gefunden werden, welche aus Literatur oder auch eigenem Vorwissen stammen. Ob sich die Resultate durch die verwendeten Gleichungen abbilden lassen, wird im Anschluss mit verschiedensten Herangehensweisen getestet werden. Generell dient der Vergleich der berechneten Daten mit experimentellen Werten als wichtigstes Kriterium.

Schritt 2

Im zweiten Schritt muss die Sensitivität der verschiedenen Prozessparameter, also die Stellgrößen des Prozesses, definiert werden. Um einen stabilen Prozess zu entwickeln, ist die Sensitivität von jeder Einflussgröße, die das System affektiert, zu bestimmen. Sofern diese Parameter, wie beispielsweise Aufbau und Konfiguration der Anlage, Designspace der Prozessparameter etc. bekannt sind, kann eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt werden. Da die Anzahl der Simulationen ebenfalls viel Rechenzeit einnehmen kann, wird im Falle dieser Arbeit ein Design of Experiments (DOE) verwendet. Der verwendete Plan ist voll-faktoriell und demnach in der Lage, Multiparameterwechselwirkungen zu detektieren. Bei der Verwendung der analysierten Daten ist zu berücksichtigen, dass diese nur für den betrachteten Designspace anwendbar sind und nur mit erweiterten Tests eine Übertragbarkeit besitzen.

Schritt 3

Aufbauend auf der Sensitivitätsstudie muss ein Konzept zur Bestimmung der notwendigen Modellparameter erarbeitet werden. Weniger sensitive Parameter müssen hierbei mit geringerer Präzision bestimmt werden als die sensitiven. Das Bestimmungskonzept selbst wiederum sollte weitestgehend darauf beruhen, dass einzelne Effekte getrennt voneinander determiniert werden und demnach eine Modularität besitzen. Diese Modularität kann dann dabei helfen, die durchgeführten Versuche auch auf neue Modelle und Systeme zu transferieren. Im Falle der Ultrafiltration sollten demnach die geometrischen Eigenschaften des Membranmoduls als erstes bestimmt werden und erst im Anschluss die der Lösung [Huter 2019b]. Im Falle der betrachteten Kristallisation in einem einfachen Rührkessel muss nur gewährleistet sein, dass eine ideale Durchmischung vorhanden ist. Sofern alle Parameter bestimmt sind, muss das Modell validiert werden. Während dies für jeden einzelnen Effekt, in das das Modell getrennt wurde, durchgeführt werden kann, muss im finalen Schritt auch der gesamte Prozess abbildbar sein. Dies bedeutet für den Fall einer kontinuierlichen SPTFF, dass nicht nur eine einzelne Kaskette berechnet werden können muss, sondern auch parallele und sequenzielle Strukturen vorhersehbar sein müssen. Dies stellt dahin eine Problematik dar, dass sich Abweichungen in der ersten Kaskette über den weiteren Prozess aufaddieren.

Schritt 4

Der letzte Schritt behandelt die Optimierung des Betriebspunktes. Für eine durchgeführte Simulationsstudie muss im Anschluss bewiesen werden, dass die kritischen Zielvariablen adäquat getroffen werden. Hierrunter fallen die Konzentrationen der Lösungen im Falle beider Grundoperationen und die damit einhergehende Ausbeute. Diese Informationen, sowie die Prozessparameter und Grenzen werden dann in ein statistisches Analysetool gefüttert. Mittels *Partial Least Square* (PLS) Regression können nun die Korrelationen zwischen Prozessparametern und Prozessvariablen gefunden werden. Auch wenn die PLS Regression nicht die Kausalzusammenhänge zwischen den Effekten erklärt, zeigt sie korrelierende Effekte. Dies wiederum hilft dabei kritische Parameter zu detektieren und den Betriebspunkt zu stabilisieren. Mit der Durchführung dieser 4 Schritte kann das Modell verifiziert und validiert werden. Die Prozessentwicklung für die gewünschte Grundoperation kann vom Modell unterstützt und beschleunigt werden [Sixt 2017, Sixt 2018b, Zobel-Roos 2019a]. Für einige Grundoperationen wurde dies bereits nach diesem Schema durchgeführt: Fest-Flüssig (Phyto-) Extraktion [Sixt 2018c], Wässrige zwei-Phasen Extraktion von monoklonalen [Schmidt 2019], Upstream Fermentation von monoklonalen Antikörpern [Kornecki 2019] und Chromatographie [Zobel-Roos 2019b].

3.2 Ultrafiltration

Basierend auf den Vorarbeiten am Institut für Thermische Verfahrens- und Prozesstechnik von Holger Thiess, Holger Fröhlich und Florian Grote wurde für diese Arbeit ein Modell für eine kontinuierliche Filtration von Biomolekülen entwickelt [Fröhlich 2012, Grote 2011, Grote 2012, Thiess 2017]. Ein Teil der Ergebnisse und Herleitungen sind bereits in den Veröffentlichungen [Huter 2019a, Huter 2019b] veröffentlicht. Die Modellentwicklung wird im folgenden Abschnitt beschrieben.

3.2.1 Überblick Modellierung

Die mathematische Abbildung von Filtrationsschritten stellen sich sehr vielfältig dar. Hierbei ist festzuhalten, dass, wie im Abschnitt 2.2.1 bereits erläutert wird, die auf Druckunterschieden basierenden Filtrationsmethoden zwei Effekte beinhalten können. Für Mikro- und Ultrafiltration ist der Effekt der Siebmechanismus bzw. die Porendiffusion dominant, während der Übergangsbereich mit 0,5 – 1 nm im Bereich der Nanofiltration liegt [Baker 2012, Thiess 2017, Thiess 2019]. Die Modellierung in dieser Arbeit beinhaltet demnach keine Sorptions-Diffusions-Ansätze, wie sie ab der Nanofiltration benötigt werden würden.

Dennoch lassen sich für die Ultrafiltration diverse Vorgehensweisen festhalten, um die Ultrafiltration theoretisch zu beschreiben. Eine Auswahl dieser Ansätze ist in der nachfolgenden Tabelle 3.1 aufgelistet. Der Fokus in der Tabelle liegt hierbei auf diversen Variablen, die für die eigene, dynamische Modellierung als wichtig erachtet wurden. Herausgestellt wird die Berechnung von Viskosität, Diffusionskoeffizient, Permeatflux, Druckverlust sowie die beschriebene Filtrationsart sofern vorhanden und genannt.

Tabelle 3.1: Literatur zur TFF Membranmodellierung.

| Quelle | Ziel-komp. | Visk. Lösung | Diff. Koeff. | Flux | ΔP | Art |
|---|----------------------------|------------------------|----------------------------------|---------------------|------------------------------|---|
| [Goldsmith 1971] | Dextran | - | - | OPM | - | TFF Batch Recycle |
| [Wijmans 1984, Wijmans 1985] | Dextran | - | - | BLM | - | TFF Batch Recycle |
| [van den Berg 1989, van den Berg 1990] | Allgemein | - | - | BLM | - | DE |
| [Jones 1993] | Trink- wasser | - | - | R (M+K+F) | - | Tubular DE |
| [Jaffrin 1994] | HSA | - | - | Emp. Korr | - | TFF Rückführung |
| [Lee 1997, Lee 1998] | | - | Stokes-Einstein + Korrelation | Darcy +R (K) | - | TFF Batch Recycle |
| [Song 1998] | Allgemein | - | - | R (M+BL+K) | - | DE + TFF Batch |
| [Bowen 1998] | BSA | - | - | ANN | - | DE |
| [Teodosiu 2000] | Abwasser | - | - | ANN, R (M+K+F) | - | DE |
| [Tansel 2000] | | - | - | OPM + R (K) | - | Multistage TFF Batch Recycle |
| [Cheng 2001] | Dextran | Emp. Korr | Emp. Korr | Mod. BLM | - | TFF Batch |
| [Karode 2001] | BSA, Dextran, Silica | - | - | OPM + R (G) | - | TFF Batch-Recycle |
| [Razavi 2004] | Milch | - | - | ANN | - | TFF |
| [Ahmad 2006] | Palmöl | - | - | OPM + R (P) | - | TFF Batch Recycle (Keramik-Membran) |
| [Kanani 2007] | HSA | - | - | Mod. OPM + R (F) | - | Gerührte DE Batch |
| [Bowen 2007] | Allgemein | Krieger & Dougherty | Stokes-Einstein | OPM | - | TFF |
| [Curcio 2009] | BSA | - | - | ANN | - | TFF Batch |
| [Brito 2009] | Dextran | Vieth Korr. | Maxwell-Stefan | OPM | - | Tubular TFF Batch |
| [Guadix 2010] | Milch | - | - | ANN | - | TFF Batch Recycle |
| [Grote 2011] | mAb, Vitamin B12 | - | - | OPM | - | Tubular TFF Batch Recycle |
| [Badrnezhad 2014] | Abwasser | - | - | ANN | - | TFF Batch Recycle |
| [Binabaji 2014, Binabaji 2015b, Binabaji 2016] | mAb | Mooney Gleichung | Emp. Korr | Mod. Polaris. | Mod. Hagen- Poiseuille | TFF Batch Recycle |
| [Aguirre Montesdeoca 2016, Aguirre Montesdeoca 2018] | Oligo- saccharide | Emp. Korr | Stokes-Einstein | OPM | - | Spiral TFF Single Pass (NF) |

Modellentwicklung

| Quelle | Ziel-komp. | Visk. Lösung | Diff. Koeff. | Flux | ΔP | Art |
|----------------------------|------------|--------------|--|-----------------|------------|---------------------------|
| [Drioli 2016] | Allgemein | - | - | OPM & Siebmech. | - | TFF Batch Recycle |
| [Thiess 2017, Thiess 2019] | BSA | Emp. Korrr | Young (basierend auf Stokes-Einstein) | OPM | Emp. Korrr | TFF Batch Recycle |
| [Hebbi 2020] | mAb | - | - | Nernst-Planck | - | TFF (DF) Batch Recycle |
| [Nguyen 2020] | Protein | Emp. Korrr | - | Emp. Korrr | - | TFF Batch Recycle |

Mit HSA (Humanserumalbumin), BSA (Rinderserumalbumin), Emp. Korrr. (Empirische Korrelation), mAb (monoklonaler Antikörper), OPM (Osmotic Pressure Model), BLM (Boundarylayer Model), ANN (künstliches neuronales Netz), Mod. (Modifiziert), R (Widerstand), K (Filtrationskuchen), M (Membran), F (Fouling), P (Polarisation), DE (Dead-End Filtration), TFF (Tangentialfluss Filtration), Visk. (Viskosität)

Wie aus der oberen Tabelle deutlich wird, existieren generell zwei Hauptvarianten, um das Ultrafiltrationsverhalten zu beschreiben. Einerseits wurde ein physiko-chemischer Ansatz, basierend auf dem Gesetz von Darcy (OPM, BLM, R), gewählt und andererseits wurden mit dem Jahrtausendwechsel Studien mit neuronalen Netzen durchgeführt. Während die Dead-End Filtration oftmals mit Widerstandsmodellen abgebildet wird, wird im Falle der Tangentialflussfiltration das OPM oftmals verwendet. Das Ziel dieser Arbeit ist wiederum den Vorgang physiko-chemisch zu begründen und damit auf andere Stoffsysteme übertragbar zu machen. Aus diesem Grund werden neuronale Netze nicht betrachtet, sondern die Anwendung des BLMs und des OPMs überprüft.

Auch wird deutlich, dass der Fokus der Veröffentlichungen bislang auf den Batchfiltrationen lag, da diese die standardmäßige Filtrationsvariante darstellen. Somit wurde die Entwicklung der dynamischen Viskosität, des Diffusionskoeffizienten und des Druckverlusts in den wenigsten Fällen beschrieben. Da bei den oben genannten Studien aber lediglich eine Filtrationsstufe betrachtet wurde, ist die dynamische Berechnung dieser Größen von geringerer Notwendigkeit. In den neueren Veröffentlichungen wurden diese Aspekte dennoch aufgegriffen. Das Ziel der in dieser Arbeit getätigten Studien ist die Betrachtung der kontinuierlichen Ultrafiltration. Dies bedeutet, dass die dynamischen Entwicklungen betrachtet werden müssen, da die Zielvariablen alle abhängig voneinander zu sehen sind. Der Retentatdruck vorangehender Filtrationsstufen stellt den Feddruck der nachfolgenden Stufe dar. Da dieser wiederum von der Beschaffenheit der betrachteten Lösung abhängt, müssen die dargestellten Größen dynamisch abbildbar sein.

Das Modell muss demnach in der Lage sein, alle diese Teilbereiche korrekt vorhersagen zu können und soll gleichzeitig möglichst modular vorliegen, um eine maximale Transferierbarkeit zu anderen Ultrafiltrationssystemen zu ermöglichen.

3.2.2 Bilanzräume des Modells

Um das Filtrationsverhalten korrekt beschreiben zu können, werden für das verwendete Modell die unterschiedlichen Transportbereiche entsprechend Abbildung 3.2 definiert.

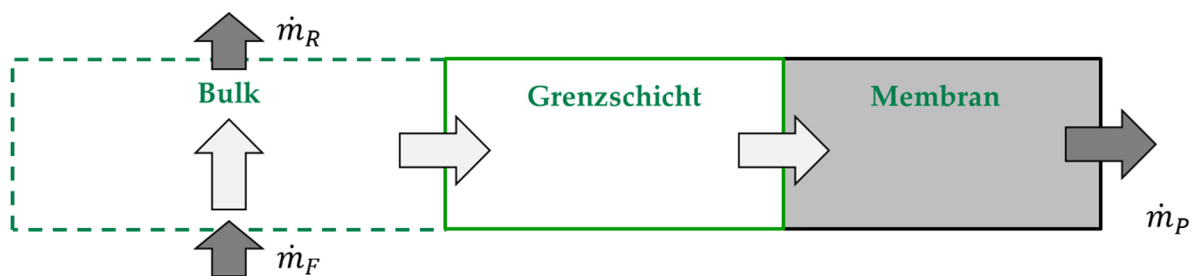


Abbildung 3.2: Massentransporte für eine Membranoperation.

Wie zu erkennen ist, gibt es den „Bulk“, der den Massenfluss des Feeds und des Retentats berücksichtigt. Ein weiterer Bereich ist die Grenzschicht, bei der zur Beschreibung des Konzentrationsunterschieds zwischen Bulk-Phase und Membran, das *Stagnant Film Model* zur Beschreibung der Konzentrationspolarisation angewendet wird. Der letzte Bereich ist die Membran selbst.

3.2.3 Massentransport

Für den Massentransport im Bulk kommt eine generelle Massenbilanz zum Tragen:

$$\dot{m}_R = \dot{m}_F - \dot{m}_P \quad 3.1$$

In diesem Zusammenhang wird angenommen, dass das Volumen im Membrankanal konstant bleibt. Dementsprechend folgt aus der Massenstromabnahme bzw. Volumenstromabnahme eine Geschwindigkeitsreduktion. Die effektive Geschwindigkeit des Mediums berechnet sich anschließend mit folgender Gleichung:

$$u_{\text{eff}} = \frac{\dot{V}}{A} = \frac{\dot{V}}{d_h \cdot w_k} \quad 3.2$$

Mit A als Querschnittsfläche bestehend aus d_h , dem hydraulischen Durchmesser und w_k , der breite des Kanals für die betrachtete Filtrationskassette [Da Costa 1994, Saeed 2012].

3.2.4 Konzentrationspolarisation

Einer der Haupteffekte der Tangentialflussfiltration ist die Konzentrations-polarisation, die zu einem reduzierten Permeatfluss und einer verminderten Retentatkonzentrationen führt. Dieser Effekt wird von Michaels [Michaels 1968] mit dem *Stagnant Film Model* beschrieben.

$$J_v = k_f \cdot \ln\left(\frac{c_M}{c_B}\right) \quad 3.3$$

In dieser Gleichung ist J_v der volumetrische Fluss durch die Membran, k_f der Massentransferkoeffizient (Verhältnis aus Diffusionskoeffizient zur Grenzschichtdicke), c_M die Konzentration der Zielkomponente an der Membran und c_B die Konzentration im Bulk. Die Konzentrationspolarisation und damit der Fluss durch die Membran werden durch die Eigenschaften der Proteinlösung und die hydrodynamischen Einflüsse beeinflusst. Die Konzentration an der Membran sollte die Gelkonzentration nicht erreichen. Erreicht das Zielmolekül diesen kritischen Prozesspunkt, wird eine Schicht gebildet, die zu einer Filmschicht auf der Membran führt und den Flux drastisch reduziert. Die Gelkonzentration des Proteins ist in der Literatur beschrieben oder muss experimentell bestimmt werden [Lee 1998].

3.2.5 Massentransferkoeffizient

Da in dieser Arbeit eine kontinuierliche Filtration betrachtet wird, unterscheiden sich die Bedingungen (Druck und Flussgeschwindigkeit) für die verschiedenen Filterkassetten stark. Dies wiederum erfordert eine dynamische Berechnung des Massentransferkoeffizienten. Zu diesem Zweck wird für das Ultrafiltrationsmodell die Sherwood-Korrelation angewandt. Über die nachfolgende Gleichung wird k_f dynamisch bestimmt.

$$Sh = \frac{k_f \cdot l_k}{D_p} \quad 3.4$$

Die benötigte Sherwood-Zahl Sh wiederum wird aus der nachstehenden Korrelation berechnet. Die verwendeten, empirischen Koeffizienten gelten für den betrachteten Strömungsbereich bei einer Reynoldszahl < 100 [Leveque 1928, Thiess 2017].

$$Sh = 1,664 + 0,33 \cdot Sc^{0,33} \cdot Re^{0,33} \quad 3.5$$

Sc steht für die Schmidtzahl und Re für die Reynoldszahl, die in den nachfolgenden Gleichungen 6 und 7 berechnet werden.

$$Sc = \frac{\eta_{Sol}}{\rho_{Sol} \cdot D_P} \quad 3.6$$

$$Re = \frac{u_{eff} \cdot l_{ch} \cdot \rho_{Sol}}{\eta_{Sol}} \quad 3.7$$

Die dynamische Viskosität der Lösung variiert leicht mit dem Wechsel der Temperatur, da diese aber im Prozess relativ stabil ist, kann wird diese Änderung vernachlässigt werden. Stärker hingegen ist die Viskosität abhängig von der Konzentration des Zielproteins. Für diese Abhängigkeiten wurden unterschiedliche Korrelationen entwickelt, um den Effekt abzubilden. Für BSA wird in dieser Arbeit folgende empirische Gleichung verwendet [Thiess 2017].

$$\eta_{Sol} = 1 \cdot 10^{-6} \cdot c^3 - 3 \cdot 10^{-4} \cdot c^2 + 4,11 \cdot 10^{-2} \cdot c \quad 3.8$$

Für IgG hingegen hat die Arbeitsgruppe um [Binabaji 2015a] basierend auf der Mooney-Gleichung den nachfolgenden Term aufgestellt.

$$\frac{\eta_{Sol}}{\eta_p} = \exp \left(\frac{b \cdot c}{1 - \left(\frac{c}{c_{Max}} \right)} \right) \quad 3.9$$

Für den Koeffizienten wurde der Wert 1,19 bestimmt und die maximale Konzentration liegt bei 800 g/L [Binabaji 2015a]. Der molare Diffusionskoeffizient wird für beide Moleküle über die von Young entwickelte Gleichung determiniert [Young 1980].

$$D_p = 8,314 \cdot 10^{-8} \left[\frac{\text{cm} \cdot \text{g}^{\frac{4}{3}}}{\text{K} \cdot \text{s}^2 \cdot \text{mol}^{\frac{1}{3}}} \right] \cdot \frac{T}{\eta_{\text{Sol}} \cdot M^{\frac{1}{3}}} \quad 3.10$$

In dieser Gleichung beschreibt T die Temperatur und M die molare Masse des Zielmoleküls.

3.2.6 Osmotic Pressure Model

Als Ansatz zur Beschreibung des Massenflusses durch die Membran wird oftmals das OPM verwendet beziehungsweise überprüft. Durch die signifikanten Einflüsse des Puffers mit dem Zielmolekül muss der osmotische Druck berücksichtigt werden. Die Differenz des osmotischen Drucks senkt die Triebkraft des Massentransports durch die Membran. Der resultierende Flux wird berechnet, in dem der osmotische Druck in die Darcy Gleichung eingebaut wird [Baker 2012, Charcosset 2012, Goldsmith 1971, Kedem 1958, Michaels 1968, Thiess 2017, Wijmans 1984, Young 1980]. Mit der Annahme einer Rückhaltung des Zielproteins von 100 % ergibt sich folgender Term [Goldsmith 1971, Thiess 2017]:

$$J_v = \frac{\text{TMP} - P_{\text{Osm}}}{\eta_p \cdot R_M} \quad 3.11$$

TMP steht in diesem Term für den Transmembrandruck, P_{Osm} beschreibt den osmotischen Druck, η_p die dynamische Viskosität des Permeats und R_M den intrinsischen Membranwiderstand. Wie im Falle der dynamischen Viskosität der Moleküle existieren für den osmotischen Druck Korrelationen, die für unterschiedliche Bedingungen wie pH-Wert, Molarität des Salzes und Proteinkonzentration bestimmt werden müssen [Binabaji 2014, Yousef 1998]. Für die betrachteten Stoffsysteme sind exemplarische Korrelationsgleichungen in Tabelle 3.2 dargestellt. Zugehörige Zahlenwerte für die Koeffizienten sind in Tabelle 3.3 zusammengetragen.

Tabelle 3.2: Korrelationsgleichungen für den osmotischen Druck.

| Protein | Gleichung | Gl. | Quelle |
|---------|--|------|-----------------|
| BSA | $P_{\text{Osm,BSA}} = [A_1 \cdot c + A_2 \cdot c^2 + A_3 \cdot c^3]$ | 3.12 | [Thiess 2017] |
| IgG | $P_{\text{Osm,IgG}} = R \cdot T \cdot [A_1 \cdot c + A_2 \cdot c^2 + A_3 \cdot c^3]$ | 3.13 | [Binabaji 2014] |

Tabelle 3.3: Virialkoeffizienten für den Osmotischen Druck von BSA und IgG.

| Protein | A1 | A2 | A3 | Quelle |
|---------|----------------------|------------------------|---------------------|-----------------|
| BSA | $3,7 \times 10^{-1}$ | $-2,98 \times 10^{-3}$ | 1×10^{-5} | [Thiess 2017] |
| IgG | 7×10^{-3} | $2,6 \times 10^{-4}$ | -4×10^{-7} | [Binabaji 2014] |

3.2.7 Boundary Layer Model

Wie in der Literatur beschrieben ist, wird der Konzentrationspolarisationseffekt in der Grenzschicht stark beeinflusst von Druck, Konzentration und Strömungsbedingung [Baker 2012]. Aus diesem Grund wird zusätzlich zu dem OPM auch ein weiteres Modell, das BLM, was diese Einflüsse berücksichtigt, verwendet. Durch den Einbau eines weiteren Widerstands R_{BL} , der diese Effekte berücksichtigt, ergibt sich folgende Gleichung [Wijmans 1985]:

$$J_v = \frac{\text{TMP} - P_{\text{Osm}}}{\eta_p \cdot (R_M + R_{\text{BL}})} \quad 3.14$$

3.2.8 Druckverlust

Wie bereits angesprochen, ändert sich die Bezugsgröße der kontinuierlichen Filtration von Zeit zu Strecke. Zusätzlich ist festzustellen, dass der Druck über die Strecke des Filtrationsweges stark variiert. Der Druckverlust ist im Allgemeinen definiert als die Differenz des eingehenden und des ausgehenden Drucks im betrachteten Bereich.

$$\Delta p = p_{\text{in}} - p_{\text{out}} \quad 3.15$$

Dieser Druckverlust wiederum wird beeinflusst von der Geometrie der Membrankassette. In dieser Arbeit wird der Einfluss der Geometrie über den Dragkoeffizient c_d beschrieben [Da Costa 1994, Saeed 2012, Wijmans 1984, Young 1980] .

$$\Delta p = \frac{c_d \cdot \rho_{\text{Sol}} \cdot u_{\text{eff}}^2 \cdot l_k}{2 \cdot d_h} \quad 3.16$$

Der Dragkoeffizient wird berechnet aus dem empirischen Plot über die Reynoldszahl:

$$c_d = X_c \cdot \text{Re}^{Y_c} \quad 3.17$$

Die Koeffizienten X_c und Y_c sind hierbei experimentell zu bestimmen und variieren mit jeder unterschiedlichen Screen-Geometrie [Da Costa 1994].

3.2.9 Hydraulischer Durchmesser

Der hydraulische Durchmesser einer Membrankassette hängt von den in Abschnitt 2.2 erläuterten geometrischen Parametern einer Membrankassette ab. Ausgehend von der allgemeinen Definition für den hydraulischen Durchmesser für mit Spacern gefüllte, flache Kanäle [Schock 1987]:

$$d_h = \frac{4 \cdot \text{Querschnitt}}{\text{Benetzter Umfang}} \quad 3.18$$

Für den betrachteten Fall ergibt sich folgender Ausdruck für den hydraulischen Durchmesser [Schock 1987]:

$$d_h = \frac{4 \cdot \varepsilon}{\left(\frac{2}{h_{\text{sp}}}\right) + (1 - \varepsilon) \cdot S_{\text{vsp}}} \quad 3.19$$

Mit ε für den Lückengrad und S_{vsp} für die spezifische Oberfläche des Screens.

Um den hydraulischen Durchmesser berechnen zu können muss der Lückengrad berechnet werden. Hierfür ergibt sich aus der allgemeinen Gleichung (3.20) im betrachteten Fall eines rautenförmigen, uniformen Screens der in Gleichung (3.21) dargestellte Term [Da Costa 1994]:

$$\varepsilon = \frac{V_{\text{tot}} - V_{\text{sp}}}{V_{\text{tot}}} \quad 3.20$$

$$\varepsilon = 1 - \frac{\pi \cdot d_f^2}{2 \cdot l_m \cdot h_{\text{sp}} \cdot \sin(\Theta)} \quad 3.21$$

Die spezifische Oberfläche des Screens ergibt sich für ein rautenförmiges Netz mit uniformen Fäden nach Costa et al. [Da Costa 1994]:

$$S_{\text{vsp}} = \frac{\text{Oberfläche}}{\text{Volumen}} = \frac{4}{d_f} \quad 3.22$$

3.2.10 Adaption des Modells auf eine mehrstufige Filtration

Durch die Mehrstufigkeit und den daraus resultierenden unterschiedlichen Bedingungen für die einzelnen Membrankassetten einer kontinuierlichen Filtration muss das Modell in verschiedene Untermodelle separiert werden. Skizziert werden die verschiedenen Modelle in Abbildung 3.3. Als Referenz für die kontinuierliche Filtration wurde das kommerzielle 4-in-series Design der Firma Pall gewählt [Pall Life Sciences 2014].

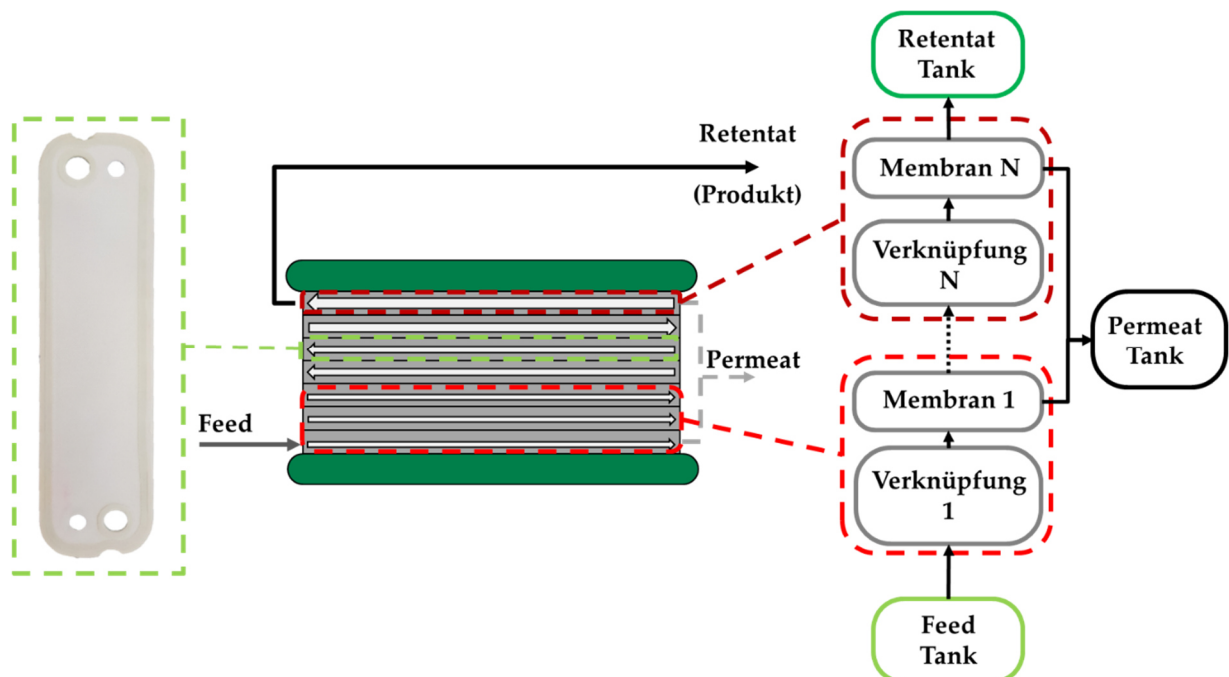


Abbildung 3.3: Modellierungsansatz für eine kontinuierliche SPTFF. Adaptiert von [Huter 2019b].

Das skizzierte SPTFF-Modul besteht aus unterschiedlichen Filtrationsstufen, gekennzeichnet durch die parallelen Pfeile. Diese variieren in Kassettenanzahl und geben zusätzlich die Möglichkeit die internen Geometrien unterschiedlich zu gestalten. Nach jeder Flussrichtung vereinen sich die Ströme und werden entsprechend der Anzahl nachfolgender Kassetten aufgeteilt. Das betrachtete Referenzmodul mit insgesamt vier Stufen besitzt einen 3-2-1-1 Aufbau. Das bedeutet, dass in der ersten Stufe 3, in der zweiten 2 und in den letzten beiden jeweils eine Membrankassette vorliegen.

Das zugehörige Modell besteht aus Submodellen für die diversen Tanks, Membranen und Verknüpfungspunkte. Während die Membranmodelle die oben geschilderten Gleichungssysteme enthalten, besitzen die Tankmodelle einfache Massenbilanzen und die Verknüpfungen trennen und führen die Ströme zusammen, entsprechend der nachfolgenden Kassettenanzahl. Parallele Membranen werden gleichermaßen berechnet. Demensprechend wird im Rahmen dieser Arbeit davon ausgegangen, dass bei parallelen Strukturen der Feedstrom gleichmäßig auf die unterschiedlichen Kanäle verteilt wird. Im Verlaufe der Arbeit wird diese Annahme geprüft.

3.2.11 Übertragbarkeit des Modells auf andere Systeme

Für das erarbeitete Modell ist es wünschenswert, dass es mit geringfügigen Änderungen für neue Systeme übernommen werden kann. Während die Parameter der Membrangeometrien unabhängig von den Proteinlösungen sind, visualisiert Abbildung 3.4 die Eigenschaften von beiden betrachteten Zielmolekülen bezüglich des osmotischen Druckes und der dynamischen Viskosität.

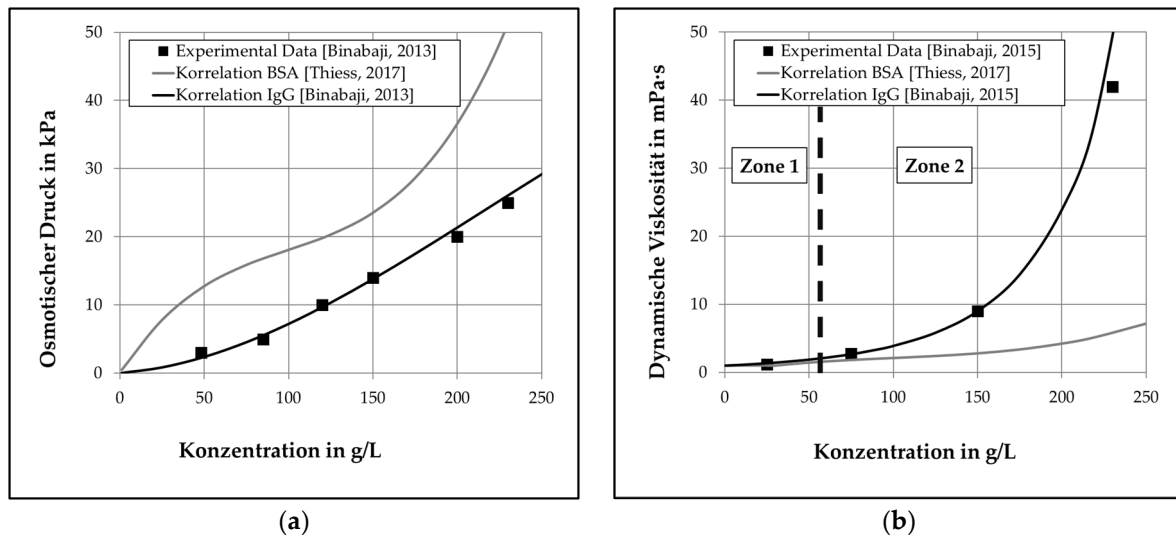


Abbildung 3.4: Abhängigkeit der Prozessvariablen von der Proteinkonzentration (a) osmotischer Druck (b) dynamische Viskosität. Adaptiert von [Huter 2019b].

Beide Diagramme basieren auf den Korrelationen von [Binabaji 2014, Binabaji 2015a, Thiess 2017] und zeigen, dass im Bereich niedriger Konzentrationen die gezeigten Effekte vernachlässigbar sind. Zu diesem Zweck ist Abbildung 3.4b unterteilt in zwei Zonen. Werden Experimente in Zone 1 ausgeführt, wo die Konzentration nicht den Wert von 50 g/L überschreitet, weisen der osmotische Druck und die dynamische Viskosität lediglich geringe Differenzen auf. Erst bei höheren Konzentrationen (>50 g/L) entstehen drastische Abweichungen, besonders im Falle der dynamischen Viskosität und den daraus resultierenden Effekten für den Druckverlust und den Grenzschichtwiderstand.

3.3 Kristallisation

Das in dieser Studie angewandte Modell basiert zu großen Teilen auf den Vorarbeiten des Instituts in Richtung der Kristallisationsmodellierung [Lucke 2018, Lucke 2019]. Diese Modellierung soll, im Rahmen der dargestellten Studie für einen komplexen Stoff, in eine systematische Prozessentwicklung gebracht werden. Einige Teile der hier durchgeführten Studien wurden bereits in [Huter 2018] veröffentlicht.

3.3.1 Überblick Modellierung

Im Falle der Kristallisation zeigt sich, dass die grundsätzlichen Zielgrößen Ausbeute und Reinheit durch die Löslichkeitskurven gegeben sind. Demnach kann, sofern diese Prozessvariablen als Ziel angegeben werden, das Gleichungssystem auf die Löslichkeitskurven reduziert werden. Der deutlich größere Aufwand liegt in der Bestimmung der Partikelgrößenverteilung sowie der Prozessdauer. Die PGV ist dabei nicht nur relevant für die zu Information zu den Partikeln an sich (x_{10} , x_{50} , x_{90}), sondern ist ebenfalls essenziell zur akkuraten Bestimmung der zeitlichen Vorgänge.

Grundsätzlich existieren unterschiedliche Möglichkeiten eine Kristallisation zu Modellieren. Als Basis für die meisten dient die Beschreibung über eine Populationsbilanz, welche von Hulburt und Katz erstmals genannt wurde [Hulburt 1964].

Zur Lösung dieser Populationsbilanz existieren vier übergeordnete Gruppen [Aamir 2010]:

- Standard Momenten Methode (SMOM)
- Numerische, nicht-lineare Modelreduktionsansätze, wie beispielsweise Quadratur-Momenten Methode (QMOM)
- Direkte numerische Ansätze
 - Finite Elemente/Volumen Diskretisierung
 - Diskretisierte Populationsbilanzen
- Dynamische Monte Carlo Simulation

Die rechnerischen, mathematischen Grundlagen wurden hierbei in diversen Veröffentlichungen wie [Hounslow 1998, Kumar 1996a, Kumar 1996b, Kumar 1997, Lim 2002, Marchal 1988, Marchisio 2003, Ramkrishna 2000] beschrieben.

In der nachfolgenden Tabelle 3.4 sind hingegen relevante Forschungsarbeiten aufgetragen, welche sich mit der Lösung der Populationsbilanz mit direktem Bezug zu Experimenten beschäftigten.

Tabelle 3.4: Literatur zur Kristallisationsmodellierung.

| Quelle | Zielkomponente | Kristallform | Lösungsmethode | Effekte | Art |
|------------------------------|----------------------------|--------------|------------------|----------|--|
| [David 1991] | Adipinsäure | kv | Diskr | N, W, Ag | Semi-Batch Rührkessel+Leitblech Kühlung |
| [van Drunen 1996] | Bariumsulfat | kv | SMOM | N, W | Batch Rührkessel Reaktion |
| [Monnier 1997] | Adipinsäure | kv | Diskr | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Blandin 2001] | Salicylsäure | kv | Diskr | N, W | Batch T-Mixer + Rührkessel Reaktion+ Kühlung |
| [Gerstlauer 2002] | Kaliumnitrat | kv | SMOM | N, W | Kontinuierlich Rührkessel Kühlung |
| [Ma 2002] | Kalium-dihydrogen-Phosphat | Char. L | HRM | N, W, Ag | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Puel 2003a, Puel 2003b] | Hydrochinon | Char. L | Diskr (MD) | N, W | Kontinuierlich Rührkessel - |
| [Gunawan 2004, Gunawan 2008] | Kalium-dihydrogen-Phosphat | Char. L | HRM | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Ono 2004] | Glutaminsäure | kv | FVM | N, W, D | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Worlitschek 2004] | Paracetamol | kv | SMOM | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Shi 2005, Shi 2006] | Lysozym | kv | QMOM | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Briesen 2006] | Kalium-Dihydrogen-Phosphat | Char. L | SMOM, Diskr (MD) | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Caillet 2007] | Zitronensäure | kv | Diskr | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Nowee 2007] | Ammoniumsulfat | - | SMOM | N, W | Kontinuierlich Rührkessel Kühlung |
| [Schöll 2007] | Glutaminsäure | kv | Diskr | W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Cornel 2009] | Glutaminsäure | kv | MPT | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |

Modellentwicklung

| Quelle | Zielkomponente | Kristallform | Lösungsmethode | Effekte | Art |
|-----------------------|---|--------------|--------------------|----------|--|
| [Lindenberg 2008] | Glutaminsäure | kv | SMOM + Diskr + CFD | Ag, N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Ma 2008] | Aluminium- kaliumsulfat- Dodecahydrat | Char. L | Diskr (MD) | W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Nagy 2008] | Lovastatin | kv | SMOM | N, W | Batch Kühlung und Antisolvent |
| [Mostafa Nowee 2008] | Natriumchlorid | kv | SMOM | N, W | Batch Rührkessel Antisolvent |
| [Sato 2008] | Kalium- dihydrogen- Phosphat | Char. L | SMOM (MD) | Br, N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Lindenberg 2009a] | Acetyl- salicylsäure | kv | MPT | N, W | Batch Rührkessel Kühlung + Antisolvent |
| [Liu 2009a, Liu 2010] | Lysozym | kv | HRM | W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Qamar 2009] | Kaliumnitrat | Char. L | SMOM (MD) | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Aamir 2010] | Kaliumdichromat | kv | QMOM | W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Alvarez 2010] | Ketoconazol | kv | Discr | N, W | Kontinuierlich Plug-Flow Kühlung |
| [Kobari 2010] | Kaliumsulfat | kv | SMOM | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Mesbah 2010] | Ammoniumsulfat | kv | SMOM | N, W | Fedbatch Rohr Verdampfung |
| [Nagy 2011] | Aluminium- kaliumsulfat- Dodecahydrat | kv | QMOM+MOC | D, N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Cao 2012] | Aluminium- kaliumsulfat- Dodecahydrat | kv | SMOM + Taylor | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Gherras 2012] | Ammoniumoxalat | kv | MOC | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Ma 2012] | Glutaminsäure | Char. L | HRM | W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Codan 2013] | Mandelsäure (R+S) | kv | SMOM | N, W | Batch Rührkessel Kühlung |
| [Majumder 2013] | Kalium- dihydrogen- Phosphat | Char. L | SMOM (MD) | N, W | Batch Rührkessel - |

| Quelle | Zielkomponente | Kristallform | Lösungsmethode | Effekte | Art |
|----------------------------|----------------------------|--------------|----------------|-----------|--|
| [Borsos 2014, Borsos 2016] | Kalium-dihydrogen-Phosphat | Char. L | SMOM (MD) | Ads, W | Kontinuierlich Rührkessel Kühlung |
| [Kwon 2014] | Lysozym | Geometrie | SMOM | W | Kontinuierlich Plug-Flow Kühlung |
| [Su 2015] | Paracetamol | kv | SMOM | N, W | Kontinuierlich Plug-Flow Antisolvent |
| [Lucke 2018, Lucke 2019] | Vanillin | kv | Diskr | Ag, Br, W | Batch Rührkessel Kühlung |

Mit Ag (Agglomeration), Ads (Adsorption), B (Bruch), D (Auflösung), Diskr (Diskretisierung), kv (Volumetrischer Formfaktor), MD (Multidimensional), MOC (Methode der Charakteristiken), MPT (Moving Pivot Technique), N (Nukleation), QMOM (Quadratur-Momenten-Methode), SMOM (Standard Momenten-Methode), W (Wachstum)

Aus der obenstehenden Tabelle wird deutlich, dass die Momenten-Methoden in den meisten Fällen verwendet werden, um die Partikelgrößenverteilung zu beschreiben. Dies liegt unter anderem daran, dass diese äußerst schnell und ressourceneffizient zu lösen sind [Aamir 2010]. Problematisch hingegen ist, dass eine komplette Rückumformung in die tatsächliche PGV nicht möglich ist und daher besonders im Falle von multimodalen Verteilungen nicht ratsam ist [Aamir 2010]. Daher werden die Momenten-Methoden oftmals nur für die Betrachtung von Nukleation und Wachstum sowie zur Bestimmung des Wachstumsfaktors herangezogen. Die andere Variante ist die Diskretisierung in Größenklassen, welche numerisch gelöst wird. Hierdurch ist es möglich Bruch und Agglomeration zu berücksichtigen. Nachteilig hierbei ist der größere Ressourcenaufwand, welcher durch den technischen Fortschritt in den letzten Dekaden kompensiert werden kann [Lucke 2018, Lucke 2019]. Zusätzlich können bei dieser Variante Oszillationen auftreten, welche das Ergebnis verfälschen können [Aamir 2010]. Auch der Ansatz, die Lösung der PB ebenfalls mit CFD zu koppeln oder im Falle der Untersuchung von Kristallformen multidimensionale PBs zu entwickeln, wurde in den letzten 10 Jahren häufiger durchgeführt. Viele der obenstehenden Forschungsarbeiten benutzten Standardsysteme wie Kaliumdihydrogenphosphat, Lysozym oder Glutaminsäure für ihre Modellierung. Die Betrachtung von stabförmigen Kristallen sowie deren Prozessentwicklung kam in den wenigsten Arbeiten vor.

Der Fokus dieser Arbeit liegt wiederum auf der Prozessmodellierung als unterstützende Maßnahme der Auslegung. Es sollen mit dem Modell die Kristallisationsschritte vorhergesehen und dabei alle möglichen Effekte abbildbar sein. Aus diesem Grund wird für diese Arbeit die eindimensionale Populationsbilanz mittels Diskretisierung verwendet. Die Kristallform wird daher nicht mehrdimensional, sondern über den Formfaktor beschrieben, um den Rechenaufwand nicht noch weiter zu erhöhen.

3.3.2 Löslichkeit, Überlöslichkeit und Übersättigung

Mit der Haupttriebkraft, der Konzentrationsdifferenz, muss im Modell die Löslichkeits- und die Übersättigungskurve bestimmt und somit der Rahmen, in dem die Kristallisation stattfinden kann, vorgegeben werden. Dies wird in beiderlei Fällen über den nachfolgenden Ansatz im Modell implementiert.

$$c_x = A_x \cdot e^{(-B_x \cdot T)} \quad 3.23$$

Mit A und B als stoff- und systemspezifische Parameter, die über die entsprechenden Vorversuche bestimmt werden. T entspricht der Temperatur, die im Rührkessel vorherrscht. Die Konzentrationsdifferenz oder auch Übersättigung wird für diese Arbeit als relativ angenommen und bestimmt sich über folgenden Ansatz [Gnielinski 1993, Sattler 2001]:

$$S = \frac{c - c_{eq}}{c_{eq}} = \frac{\Delta c}{c_{eq}} \quad 3.24$$

3.3.3 Energiebilanz

Bei der Kühlungskristallisation ist es notwendig zu jedem Zeitpunkt die Temperatur im System berechnen zu können. Hierfür wird eine allgemeine Energiebilanz verwendet, welche den Energieeintrag durch Rühren und Kühlen berücksichtigt. Mit Gleichung (3.25) wird dementsprechend die Temperatur der Lösung für den Kristallisationsschritt bestimmt:

$$\rho_S \cdot c_p \cdot V_S \cdot \frac{dT}{dt} = \dot{Q}_{St} - \dot{Q}_{Cool} \quad 3.25$$

Mit ρ_s für die Dichte der Suspension, c_p der spezifischen Wärmekapazität der Lösung und V_s dem Volumen der Lösung. Die verschiedenen Wärmeströme werden über die nachfolgenden Ausdrücke berechnet [Lucke 2019, Sattler 2001]:

$$\dot{Q}_{St} = Ne \cdot n^3 \cdot d_R \cdot \rho_s \quad 3.26$$

$$\dot{Q}_{Cool} = k_W \cdot A_M \cdot \Delta T \quad 3.27$$

Mit Ne für die Newtonzahl, n für die Drehzahl des Rührers, d_R für den Rührerdurchmesser und ρ_s für die Dichte der Suspension. Im zweiten Term sind sowohl der spezifische Wärmeübergangskoeffizient als auch die Übertragungsfläche enthalten, welche für die entsprechende Anlage berücksichtigt werden muss.

3.3.4 Massenbilanz

Die zeitliche Änderung der Konzentration in der flüssigen Phase wird in dieser Studie über die nachfolgende Gleichung (3.25) beschrieben. Entsprechend der Annahme, dass in dieser Studie die Partikel lediglich wachsen und nicht über Keimbildung entstehen und die Dichte der Kristalle als konstant angesehen werden kann, ergibt sich folgender Term [Codan 2013, Lucke 2018, Lucke 2019, Miller 1994]:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -3 \cdot \frac{\rho_c k_v G}{m_s} \int_0^\infty q_0 x^2 dx \quad 3.28$$

Mit ρ_c für die Dichte der Kristalle, k_v für den volumenbezogenen Formfaktor, G als Wachstumsterm und m_s für die Masse der Lösung und q_0 für die Partikelanzahlverteilung.

Der Wachstumsterm berechnet sich über die relative Übersättigung des Systems sowie einem stoffspezifischen Vorfaktor und Exponenten [Mullin 2001].

$$G = k_G \cdot (S)^g \quad 3.29$$

Der Formfaktor stellt das Verhältnis zwischen Volumen und charakteristischer Länge des Kristalls dar. Im Falle eines Würfels nimmt dieser Faktor den Wert 1 an, und im Falle einer Kugel den Wert 0,524. Unter der Annahme, dass es sich bei dem Zielstoff um Nadeln handelt [Chan 1997], lässt sich mit Informationen über den maximalen Durchmesser und der gemessenen zweidimensionalen Oberfläche, dieser Wert abschätzen. Hierfür wird in Rahmen dieser Arbeit angenommen, dass die Raumrichtungen y und z gleichzusetzen sind. Somit lässt sich mit der Information über die Fläche folgende Aussage treffen:

$$y = \frac{A}{x} \quad 3.30$$

$$\frac{x}{y} = \phi \quad 3.31$$

$$V = x \cdot \frac{x}{\phi} \cdot \frac{x}{\phi} = \frac{x^3}{\phi^2} \quad 3.32$$

$$k_v = \frac{V}{x^3} = \frac{\frac{x^3}{\phi^2}}{x^3} = \frac{1}{\phi^2} \quad 3.33$$

3.3.5 Populationsbilanz

Um die Konzentration zeitlich abbilden zu können, ist es notwendig, die Partikelgrößenverteilung zu berechnen. Hierfür wird in dieser Arbeit eine eindimensionale Populationsbilanz verwendet. Diese umfasst, entsprechend der betrachteten Effekte der Kristallisation und dem Arbeiten im metastabilen Bereich, Agglomeration, Bruch und Wachstum. Allgemein lässt sich somit folgender Ausdruck formulieren:

$$\frac{\partial q_0(x,t)}{\partial t} = - \text{Wachstum} + \text{Birth} - \text{Death} \quad 3.34$$

Das Wachstum kann über den folgenden Ausdruck beschrieben werden [Codan 2013]:

$$\text{Wachstum} = \frac{\partial(q_0(x,t) G)}{\partial x} \quad 3.35$$

Sowohl der Bruch als auch Agglomeration bestehen aus *Birth*- und *Death*-Termen. Im Falle des Bruchs zerbricht eine bestehende Fraktion in kleinere Kristalle, wie es schematisch in Abbildung 3.5 gezeigt wird.

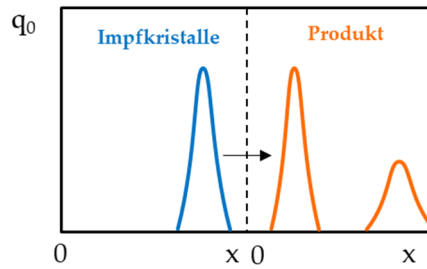


Abbildung 3.5: Skizzierte Änderung der Partikelgrößenverteilung durch Bruch.

Zur Beschreibung dieses Vorgangs werden folgende Gleichungen für den Birthterm und den Deathterm im Falle des Bruchs angewendet [Briesen 2008, Lucke 2019]:

$$B_{Br} = \int_x^{\infty} r_{Br}(y) q_{Br}(x,y) q_0(y,t) dy \quad 3.36$$

$$D_{Br} = r_{Br}(x) q_0(x,t) \quad 3.37$$

In beiden Gleichungen ist die Bruchrate r_{Br} enthalten. Für die durchgeführte Modellierung wird diese proportional zur Scherrate ($\dot{\gamma}$) und antiproportional zur dynamischen Viskosität (ν) angenommen und mittels folgenden Terms berechnet [Bäbler 2007, Lucke 2019]:

$$r_{Br} = e^{\left(\frac{-2x}{x_{max}}\right)} \frac{\dot{\gamma}^2 \cdot x^2}{\nu} \quad 3.38$$

Analog wird für die Agglomeration ebenfalls der *Birth*- und *Death*-Term benötigt. Dieser beschreibt entgegen des Bruches, wie aus einer bestehenden Verteilung mit einer Vielzahl kleinerer Kristalle große Kristalle entstehen, wie es in der nachfolgenden Abbildung 3.6 dargestellt ist.

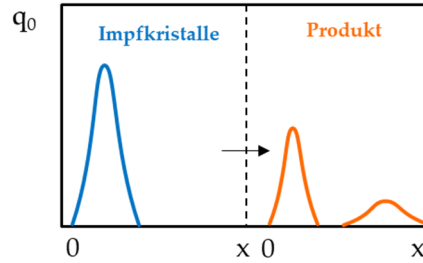


Abbildung 3.6: Skizzierte Änderung der Partikelgrößenverteilung durch Agglomeration.

Für die Agglomeration lassen sich folgende Gleichungen aufstellen [Lindenberg 2008, Lindenberg 2009b, Lucke 2018, Lucke 2019]:

$$B_A = \frac{x^2}{2} \int_0^x \frac{1}{(x^3 - y^3)^{2/3}} \beta(y, (x^3 - y^3)^{1/3}) q_0(y, t) q_0((x^3 - y^3)^{1/3}, t) dy \quad 3.39$$

$$D_A = q_0(x, t) \int_0^\infty \beta(x, y) q_0(y, t) dy \quad 3.40$$

Vergleichbar zur Bruchrate, wird für die Agglomeration der Kollisionkernel (β) benötigt. Dieser ist hängt ebenfalls von der Scherrate und somit von der Intensität des Rührens ab und lässt sich über folgende Gleichung bestimmen [Lucke 2018, Lucke 2019]:

$$\beta(x, y) = \frac{\dot{\gamma}}{6 \cdot (x + y)^3} \cdot [\mu\text{m}^3 \cdot \text{s}] \quad 3.41$$

Für beide Veränderungseinflüsse der Populationsbilanz werden nach [Lucke 2018, Lucke 2019] weitere Normalisierungsterme benötigt. Diese normieren die Flächen unter den zusammengehörigen Verteilungen zu gleicher Größe. Für den Bruch nehmen diese folgende Gestalt an [Lucke 2018, Lucke 2019]:

$$N_{\text{Birth,Br}} = \int_0^{\infty} B_{\text{Br}} dx \cdot A_{\text{Br}} \quad 3.42$$

$$N_{\text{Death,Br}} = \int_0^{\infty} D_{\text{Br}} dx \cdot A_{\text{Br}} \quad 3.43$$

Und für die Agglomeration:

$$N_{\text{Birth,A}} = \sum \left(\frac{x^2}{2} \cdot B_A \right) \cdot A_{\text{Agg}} \cdot \left(\frac{n}{n_{\text{ref}}} \right)^{e_{\text{Agg}}} \quad 3.44$$

$$N_{\text{Death,A}} = \sum (q_0 \cdot D_A) \cdot A_{\text{Agg}} \cdot \left(\frac{n}{n_{\text{ref}}} \right)^{e_{\text{Agg}}} \quad 3.45$$

Mit dieser gesamten Populationsbilanz ist es nun möglich, nicht nur monomodale Verteilungen zu berechnen, sondern die Änderung einer kompletten Verteilung, ausgehend von einer Startverteilung, zu bestimmen. Die komplette Populationsbilanz, mit der die Artemisininkristallisation modelliert werden soll, gestaltet sich somit mit Gleichung (3.46):

$$\frac{\partial q_0(x,t)}{\partial t} = - \frac{\partial (q_0(x,t) G)}{\partial x} + \frac{B_{\text{Br}}}{N_{\text{BBr}}} - \frac{D_{\text{Br}}}{N_{\text{DBr}}} + \frac{B_A}{N_{\text{B,A}}} - \frac{D_A}{N_{\text{D,A}}} \quad 3.46$$

4 Material und Methoden

In diesem Kapitel werden die unterschiedlichen Aufbauten und Methoden zur Durchführung der Versuchsreihen vorgestellt.

4.1 Ultrafiltration

4.1.1 Versuchsaufbau

Der Aufbau zur Modellierung richtet sich nach dem 4-stufigen Aufbau des Cadence® ILC Moduls der Firma Pall. Im Gegensatz zum kommerziellen Modul, werden die unterschiedlichen Stufen in unterschiedlichen Membranhaltern separiert. Zusätzlich wird eine Messtechnik bestehend aus Waagen, Massenflussmessern und Drucksensoren eingebracht. Der skizzierte Aufbau ist in Abbildung 4.1 dargestellt.

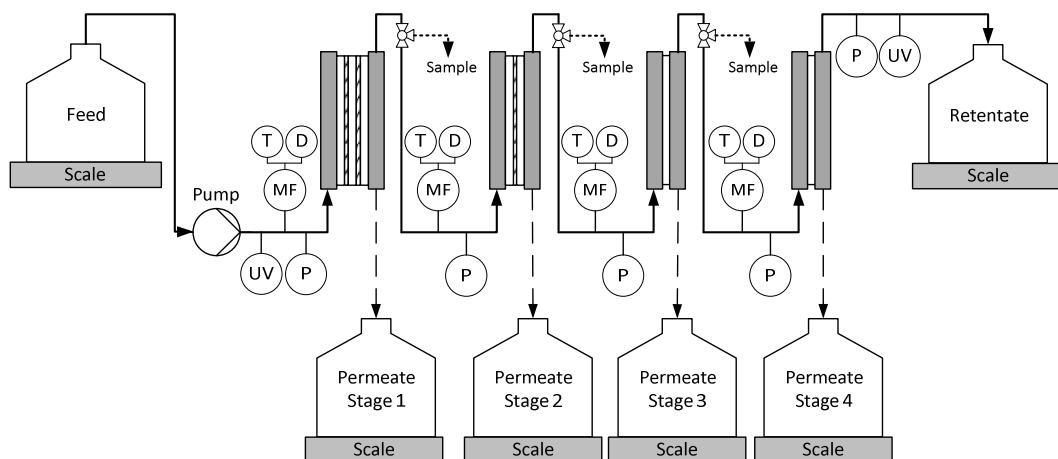


Abbildung 4.1: Schematischer Aufbau des Ultrafiltrations-Versuchstandes. Adaptiert von [Huter 2019b].

MF steht hierbei für Massenflussmesser, der zusätzlich Temperatur und Dichte der Lösung aufnimmt, P steht für die Druckmesser und UV für UV-Messzellen, welche am Beginn und am Ende der Anlage eingesetzt sind. Für die Messung an einzelnen Kassetten wird der Aufbau auf lediglich einen Membranhalter reduziert. Weiterhin wurde im Falle der Messungen für hohe Proteinkonzentrationen der Aufbau um die Massenflusssensoren reduziert, da diese keinen informativen Mehrwert besaßen, aber zu deutlichen Druckverlusten führten.

Für die Validierungen der Modelle wurden die kleinsten kommerziellen Kassetten verwendet. Diese verfügen über lediglich einen Feed-/Retentatkanal und zwei Permeatkanäle. Dies reduziert einerseits den Materialaufwand und andererseits minimiert es die Einflüsse durch interne

parallele Strukturen. Für die Hauptstudien wurden zwei Kassettentypen verwendet. Für die erste Studie kamen TangenX Pro 30 kDa Kassetten mit einem L-Screen der Firma Repligen zum Einsatz. In der Folgestudie wurde zu den Pall T01 30 kDa gewechselt.

4.1.2 Verwendete Lösungen

In den durchgeführten Studien für dieses Themengebiet wurden unterschiedliche Lösungen verwendet. Der Fokus der ersten Studie lag auf der korrekten Berechnung von Druckverlust und Massenfluss durch die Membran. Hierfür wurde eine niedrigkonzentrierte mAb-Lösung untersucht, die aber eine hohe Viskosität besitzt. Gewonnen wurde diese aus einer wässrigen zwei-Phasen Extraktion (*engl. aqueous two-phase extraction, ATPE*). Diese ATPE ist ein alternativer Harvest-Schritt für die mAb-Downstream, der zusätzlich kontinuierlich durchführbar ist [Gronemeyer 2016, Schmidt 2017] und findet demnach in einem frühen Stadium der Proteinisolierung Anwendung. Die Lösung besteht aus Polyethylenglykol 400 (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland), Phosphatpuffer und zellfreiem Medium.

Für die hierauf aufbauende Studie wurde eine hochkonzentrierte BSA-Lösung als repräsentative Lösung für ein Protein am Ende eines Aufreinigungsprozesses genommen. Hierzu wurden 80 g/L BSA in einem 10 mM KPi-Puffer (pH 7) gelöst.

In beiden Studien wurde das Reinstwasser für die Clean Water Resistance Tests (CWRT) mittels der Sartorius arium® 157 pro (Sartorius®, Göttingen, Deutschland) gewonnen.

4.1.3 Versuchsmethoden

Datensätze für die Modellierung

Zur Modellierung der Ultrafiltrationsschritte wurden unterschiedliche Datensätze benötigt. Der generelle Arbeitsablauf zur Bestimmung der Parameter richtete sich nach dem in Abbildung 4.2 dargestellten Ablauf.

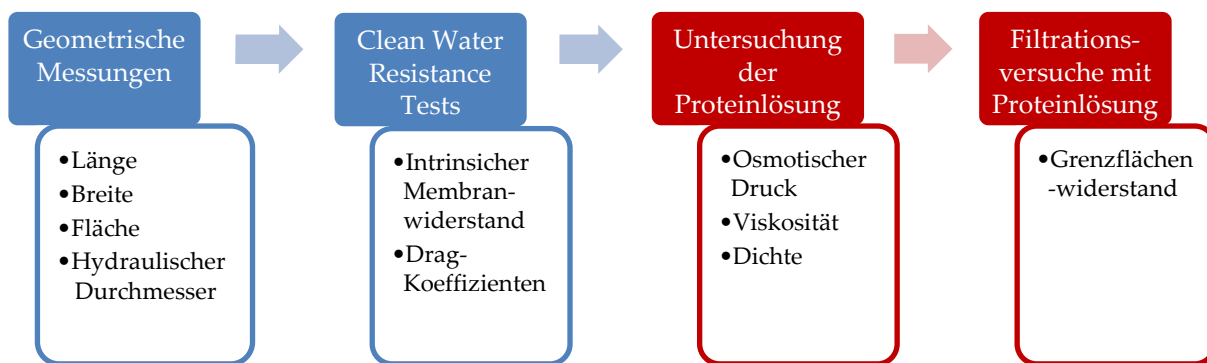


Abbildung 4.2: Parameterbestimmungsablauf Ultrafiltration.

Die generelle Parameterbestimmung separierte sich demnach in vier unterschiedliche Schritte, die nacheinander erfolgten. Zunächst werden die Parameter bestimmt, die auf dem Membranmodul basieren. Zur Messung des intrinsischen Membranwiderstands und der Drag Koeffizienten für beide Studien wurden drei unterschiedliche Kassetten eines Typs mittels Clean Water Resistance Test (CWRT) untersucht. Bei diesen wurden mindestens drei Transmembrandrücke, durch Variation des Feed-Volumenstroms und Einsatz eines Retentatventils, angelegt.

Anschließend erfolgten die Untersuchungen der Proteinlösung. Während einige Eigenschaften, wie Dichte und Viskosität der leichten Phase, selbst gemessen wurden, basierten andere Charakteristiken auf Korrelationen der Arbeiten von [Binabaji 2014, Binabaji 2015a]. Hierfür wurden die Lösungseigenschaften für eine 100 mM Pufferlösung bei einem pH-Wert von 7 gewählt. Im Falle der Untersuchung von BSA Lösungen kamen für die Viskosität, Dichte und den osmotischen Druck die Korrelationen von [Thiess 2017] zum Einsatz. Im Anschluss wurde dann mittels Versuche an einer Kassette der Grenzflächenwiderstand bestimmt. Hierfür wurde

ähnlich zum CWRT vorgegangen und bei einer Proteinlösung mittels Retentatventil und Strömungsgeschwindigkeit der Druck variiert.

Das Modell wurde im Aspen Custom Modeler™ (Aspen Tech, Bedford, MA, USA) geschrieben und die statistischen Analysen wurden mittels JMP (SAS Institute, Cary, NC, USA) durchgeführt. Die PLS-Analyse wiederum erfolgte mittels Unscrambler® X (Camo Analytics, Oslo, Norway).

Validierungsexperimente

Zur Validierung der Modelle wurden jeweils drei Experimente unter gleichen Bedingungen repliziert. Die Dauer der Versuche betrug 60 min um einen steady-state zu gewährleisten und während der Versuche wurden Proben des Retentats gezogen.

Bei der ersten Versuchsreihe wurde hierfür ein Feed-Massenstrom von 25 g/min gewählt, der in einem Feed-Druck von ca. 4 bar resultierte. Dieser Feed-Druck entsprach wiederum dem maximalen, vom Hersteller vorgegeben Betriebsdruck. Im Anschluss an jeden Versuch wurden die Membranen zunächst mit 0.5 M NaOH gereinigt und bei 0.2 M NaOH gelagert.

Für die zweite Studie wurde der Centerpoint des entworfenen DoEs für die Betriebsparameter als Validierungsexperiment gefahren. Hierbei wurden 2 bar als untere und 4 bar als die obere Grenze gewählt. Während die obere Grenze, wie in der vorangegangenen Studie, durch den Hersteller vorgegeben wird, entsprachen 2 bar einem Volumenstrom von ca. 50 mL/min, welches als minimaler Durchsatz gewählt wurde. Dieser Versuch wurde ebenfalls dreimal bei einer Dauer von 60 min durchgeführt. Im Anschluss wurden die Kassetten mit 0,2 M NaOH gereinigt und bei 0,1 M NaOH gelagert.

4.1.4 Analysemethoden

Für die Inline-Messungen kamen in der ersten Studie 5 A08 (Sensor-Technik Wiedemann, Kaufbeuren, Deutschland) und 4 Mini Cori-Flow™ M14 (Bronkhorst High-Tech BV, Ruurlo, Niederlande) Massenflussmesser zum Einsatz. Weiterhin wurden die Massenänderungen der unterschiedlichen Ströme (siehe Abbildung 4.1) mit PCE TB 6 Waagen (PCE Deutschland GmbH, Meschede, Deutschland) bestimmt.

Im Falle der BSA-Studie wurde zu 5 AP016-Druckmessern (Autosen, Essen, Deutschland) gewechselt und die Feedwaage durch eine PCE TB 15 (PCE Deutschland GmbH, Meschede, Deutschland) aufgrund des erhöhten Feedvolumens ersetzt

Als Offline-Analytik kamen einerseits die Protein A Chromatographie (PA ID Sensor Cartridge, Applied Biosystems, Bedford, MA, USA) zur Messung der IgG-Konzentration, andererseits die Yarra™ 3 µm SEC-3000 (Phenomenex Ltd., Aschaffenburg, Deutschland) zur Bestimmung der Reinheit zum Einsatz. Für die Protein A Chromatographie wurde zur Beladung der Dulbeccos PBS Puffer (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) mit einem pH-Wert von 7,4 verwendet. Zur Elution wurde der gleiche Puffer mit einem pH-Wert von 2,6 eingesetzt. Für die SEC wurde isokratisch ein Puffersystem aus 0,1 M Na₂SO₄, 0,1 M Na₂HPO₄, and 0,1 M NaH₂PO₄ (Merck KGaA, Deutschland) verwendet.

4.2 Kristallisation

4.2.1 Versuchsaufbau

Für die Kristallisationsversuche kam ein doppelwandiger Rührkessel mit einem maximalen Volumen von 1 L zum Einsatz. Die Temperatur wurde über den FP50-MA (Julabo, Seelbach, Deutschland) Thermostaten gesteuert. In den Rührkessel sind sowohl eine Trübungssonde (Excell 230, Exner, Recklinghausen, Deutschland) als auch eine Leitfähigkeits- und Temperatursonde (Conducell 4UxF, Hamilton Company, Reno, NV, USA) als Inline Detektoren eingesetzt. Für die Versuche im Kessel wurde ein Volumen von 800 mL befüllt, woraus ein Höhe/Durchmesserverhältnis von 1.15 resultierte. Gerührt wurde das System mittels eines einfachen 4-Blatt Rührer mit einem Winkel von 45° und einem Durchmesser von 5 cm, der 3 cm vom Kesselboden platziert wurde.

Zur Bestimmung der Fluidodynamik wurde dem Aufbau ein Eingangsstrom mit zwei Pumpen, einem 3-Wegeventil und einem UV-Detektor sowie ein Ausgangsstrom bestehend aus einer Pumpe und einem UV-Detektor, hinzugefügt.

4.2.2 Verwendete Materialien

Für diese Arbeit wurde einerseits reines Artemisinin und andererseits rohes Pflanzenmaterial des Einjährigen Beifußes (*Artemisia annua* L.) von der Firma Cfm Oskar Tropitzsch (Markredwitz, Deutschland bezogen). Das Pflanzenmaterial wurde zur Vorbereitung mittels Grindomix® 200 (Retsch GmbH, Haan, Germany) auf 1 mm gehäckselt und bei -20 °C gelagert.

Verwendete Impfkristalle wurden aus reinem Artemisinin hergestellt, welches in die Klassen $100\text{ }\mu\text{m} < x < 150\text{ }\mu\text{m}$ gesiebt wurde. Die Partikelfraktionen, die größer oder kleiner sind, wurden zusätzlich für Agglomerations- und Bruchversuche verwendet. Von allen Fraktionen wurde eine PGV aufgenommen.

Aceton, Ethanol und Acetonitril wurden in der Qualitätsstufe „analysenrein“ von VWR® (Darmstadt, Deutschland) bezogen und das verwendete Wasser über die Satorius® arium® pro (Göttingen, Deutschland) gereinigt.

4.2.3 Versuche

Zur Erstellung des Kristallisationsmodells und -prozesses wird sequenziell vorgegangen, um möglichst viele Effekte voneinander zu trennen. Der Ablauf richtet sich nach dem in Abbildung 4.3 dargestellten Schema.



Abbildung 4.3: Vorgangsschema für die Kristallisation.

Fluiddynamik

Zur Bestimmung der Fluiddynamik wurde die Tracer-Substanz (Wasser-Aceton) in den Rührkessel gefördert und die Konzentrationsentwicklung mit der eines idealen Rührkessels verglichen. Hierfür wurde in Rührerdrehzahl und Flussgeschwindigkeit des Kristallisators variiert, um für den kompletten Arbeitsbereich das ideale Verhalten zu überprüfen.

Energiebilanz

Zur Bestimmung der Energiebilanz, wurde das gewünschte Volumen von 800 mL in den Rührkessel gefüllt und anschließend wurden verschiedene Temperaturgradienten mittels externen Kryostaten eingestellt, um das Temperaturprofil mit dem im Rührkessel zu vergleichen. Zusätzlich wurde aus diesen Versuchen der Wärmeübergangskoeffizient bestimmt.

Löslichkeit & Systemfindung

Das Lösungsmittelscreening wurde mit einem MKR 13 Thermoschüttler (Hettich Benelux, Geldermalsen, Niederlande) durchgeführt. Hierfür wurden 50 mL Falcons® (VWR®, Darmstadt, Germany) gefüllt mit reinem Artemisinin und dem entsprechenden Lösungsmittelgemischen. Die Mischungen wurden für 3 h bei konstanter Temperatur geschüttelt, bevor die Proben entnommen, gefiltert und analysiert wurden.

Für Artemisinin wurden bereits diverse Lösungsmittel getestet [Lapkin 2010, Liu 2009b, Qu 2010, Wang 2007]. Aufgrund der hohen Löslichkeit in sowohl reinem Aceton als auch reinem Ethanol [Lapkin 2010, Liu 2009b], wurden diese ausgewählt. Weiterhin wurden diese und mit Wasser versetzt, um die Löslichkeitskurve zu variieren. Aceton wurde hierbei auch gewählt, da es für den Extraktionsschritt zu Anfang des Prozesses verwendet wird. Ethanol ist zusätzlich ein typisches Lösungsmittel für die Umkristallisation von Artemisinin [Tu 2017].

Datensätze für die Modellierung

Zur Bestimmung der Überlöslichkeitskurve und dem daraus resultierenden metastabilen Bereich wurde die polytherme Methode verwendet. Hierzu wurde im oben beschriebenen Rührkessel die Temperatur soweit abgesenkt, bis eine Trübung zu detektieren war. Im Folgeschritt wurde die Lösung wieder erhitzt, sodass sich die Kristalle wieder lösten und der Punkt, ab dem keine Trübung mehr zu detektieren war, wurde aufgenommen. Jeder dieser Versuche wurde dreifache wiederholt. Zusätzlich wurden sowohl der Temperaturgradient als auch die Rührgeschwindigkeit variiert.

Für die Agglomerations- und Bruchversuche wurden je 0,2 g von drei unterschiedlichen Siebfraktionen in eine gesättigte Lösung bei 20 °C gegeben. Anschließend wurde die Lösung über 2 h bei 100 bzw. 400 RPM gerührt. Anschließend wurden die Partikel gefiltert, getrocknet und die PGV bestimmt.

Das Wachstum wurde über isotherme Wachstumsversuche bestimmt. Hierzu wurden bei zwei verschiedenen Temperaturen zwei unterschiedlich übersättigte Lösungen mit Impfkristallen versetzt.

Als nachfolgende Schritte auf jeden der obenstehenden Versuche wurde der Kristallisator geleert, die Lösung filtriert und anschließend mit Reinstwasser gewaschen. Daraufhin wurden die Kristalle bei 60 °C getrocknet und anschließend vermessen.

Die Mutterlauge wurde komplett abgedampft mittels Rotationsverdampfer (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany) und das Artemisinin zurückgewonnen.

Prozessdesign

Die Einflüsse auf die Prozessvariablen (x_{10} , x_{50} , x_{90} , Ausbeute, Raum-Zeit-Ausbeute) wurden in einem voll-faktoriellen DoE untersucht. Die Parameter hierfür waren die Starttemperatur, Endtemperatur, Dauer des Schritts und die Startübersättigung.

Prozessintegration

Für die Integration des Kristallisationsschritts in einen vorgelagerten Punkt im Prozess wurde das Pflanzenmaterial entsprechend den in [Mestmäcker 2018, Schmidt 2018, Sixt 2017, Sixt 2018a] beschriebenen Prozessschritten vorbereitet. Anschließend wurde ein Lösungsmittelwechsel auf das Zielsystem durchgeführt und die Lösung auf -20°C abgekühlt. Zusätzlich wurde analog zur aufgereinigten Lösung die Löslichkeit und Überlöslichkeit mittels polythermer Methode bestimmt. Insgesamt wurden 20 kg Pflanzenmaterial für diese Versuchsreihe prozessiert.

4.2.4 Analysemethoden

Die Artemisininkonzentration wurde bestimmt über eine Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (englisch *High performance liquid Chromatographie*, HPLC) mittels einer Elite LaChrom® (Hitachi High Technologies America, Schaumburg, IL, USA) inklusive Lichtstreuendetektor (englisch *Evaporation Light Scattering Detector*, ELSD) des Typs Alltech® 3300 (Grace®, Columbia, SC, USA). Als analytische Säule wurde eine PharmPrep® RP18 250 mm × 4 mm i.d. von Merck® (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) bei einer Betriebstemperatur von 25 °C eingesetzt. Als Eluenten kam eine Mischung aus Acetonitril (VWR®, Darmstadt, Deutschland) und Reinstwasser (Sartorius® arium® pro, Göttingen, Deutschland) zum Einsatz. Die verwendete isokratische Methode agierte mit einer 60/40 Mischung bei 1 mL/min Flussgeschwindigkeit. Das Injektionsvolumen betrug 10 µL und die Proben wurden auf 0,2 µm vorfiltriert. Der angeschlossene ELSD wurde bei 36 °C und einer Luftstromrate von 1,6 mL/min betrieben. Die aufgeführte Methode basiert auf dem Analysenprotokoll von *Lapkin et al.* [Lapkin]. Kristallgrößen wurden mittels zweier unterschiedlicher Methoden gemessen. Im Falle der Agglomerations- und Bruch sowie Wachstumsexperimente kam ein Lichtmikroskop des Typs Axiolab A (Zeiss, Oberkochen, Deutschland) zum Einsatz. Für die Prozessdesignexperimente hingegen wurde ein QicPic® (Sympatec, GmbH, Clausthal-Zellerfeld, Deutschland) verwendet.

Gemessen wurden hierfür sowohl die Startkristalle als auch die finalen Kristalle nach Wasch- und Trockenschritt. Die charakteristische Länge hierfür war der maximale Feret-Durchmesser. Die im Rahmen der Prozessintegration durchgeführten H-NMR (*Hydrogen Nuclear magnetic resonance*)-Analysen wurden mittels dem Bruker AVANCE III 600 MHz Spektrometer (Bruker, Rheinstetten, Deutschland) gemessen. Die Proben wurden hierfür mit einem Rotationsverdampfer (IKA®-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland) komplett getrocknet. Anschließend wurde die Probe in deuteriertem Benzol (C₆D₆) für die Messung gelöst. Die Messparameter waren: ¹H NMR (600 MHz, C₆D₆, 7,16 ppm): 5,51 (s, 1H), 3,35 (dq, *J* = 7,3, 5,0 Hz, 1H), 2,23 (ddd, *J* = 14,5, 13,3, 4,0 Hz, 1H), 1,60 (ddd, *J* = 14,6, 4,8, 2,9 Hz, 1H), 1,48 (dddd, *J* = 14,0, 7,0, 4,1, 3,0 Hz, 1H), 1,26 (s, 3H), 1,25–1,20 (m, 2H), 1,12–1,02 (m, 2H), 1,00 (d, *J* = 7,25 Hz, 3H), 0,92 (ddd, *J* = 11,1, 11,1, 6,8 Hz, 1H), 0,71–0,62 (m, 1H), 0,60 (d, *J* = 6,3 Hz, 3H), 0,47–0,37 (m, 2H).

5 Ergebnisse und Diskussion

In diesem Kapitel werden für beide Grundoperationen die Ergebnisse der unterschiedlichen Versuchsreihen genauer erläutert sowie diskutiert.

5.1 Ultrafiltration

5.1.1 Sensitivitätsstudie und Charakterisierung des Modells

Wie bereits in Abschnitt 3.1 beschrieben wurde, erfolgt zunächst eine Risikoanalyse. Diese gestaltet sich im Fall der Ultrafiltration in dem nachfolgenden Ishikawa Diagramm (Abbildung 5.1).

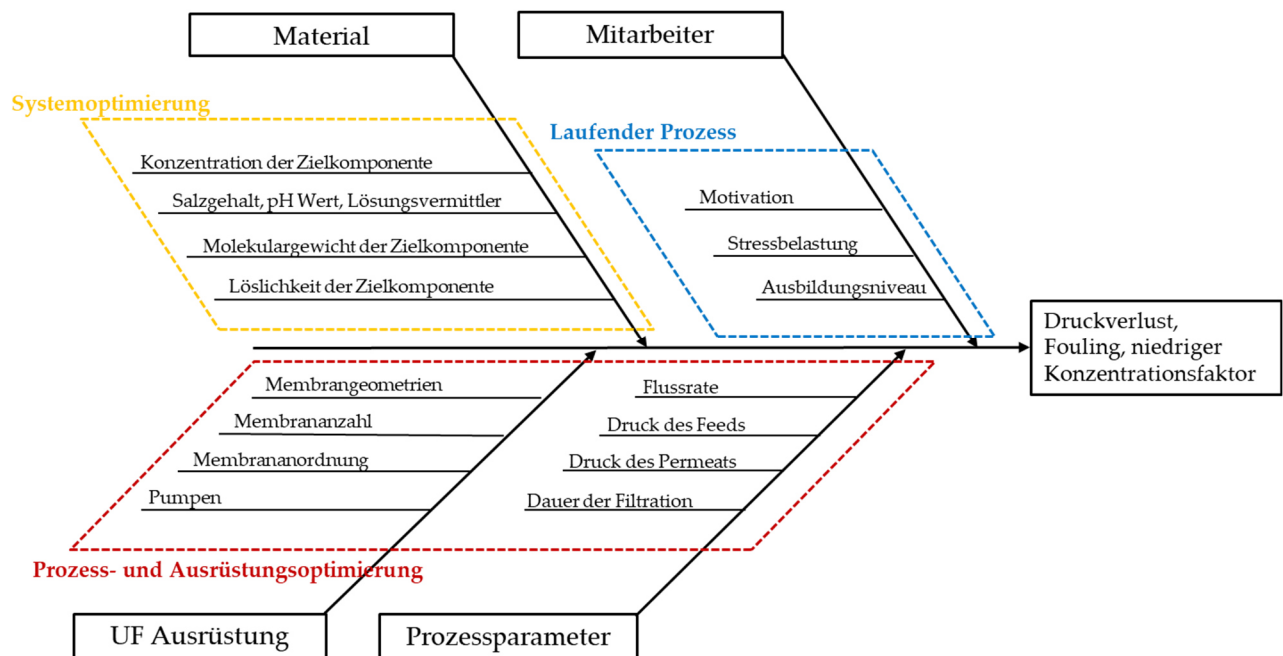


Abbildung 5.1: Ishikawa-Diagramm für die Ultrafiltration. Adaptier von [Huter 2019a].

In dem obenstehenden Diagramm wurden die unterschiedlichen Einflüsse hinsichtlich ihrer Herkunft in vier unterschiedliche Arme separiert. Zusätzlich wurden die Optimierungsmöglichkeiten eingefärbt in Systemoptimierung (gelb), die die Eigenschaften des Mediums beschreiben, Prozess- und Ausrüstungsoptimierung (rot) und den laufenden Prozess, also den Einfluss der Mitarbeiter. An diese schließt eine persönliche Einordnung der Risiken hinsichtlich ihrer Auftrittswahrscheinlichkeit und ihrer Auswirkung auf den Prozess. Hierzu wird in der nachfolgenden Abbildung 5.2 die Belastung als Referenzmittelpunkt gesetzt.

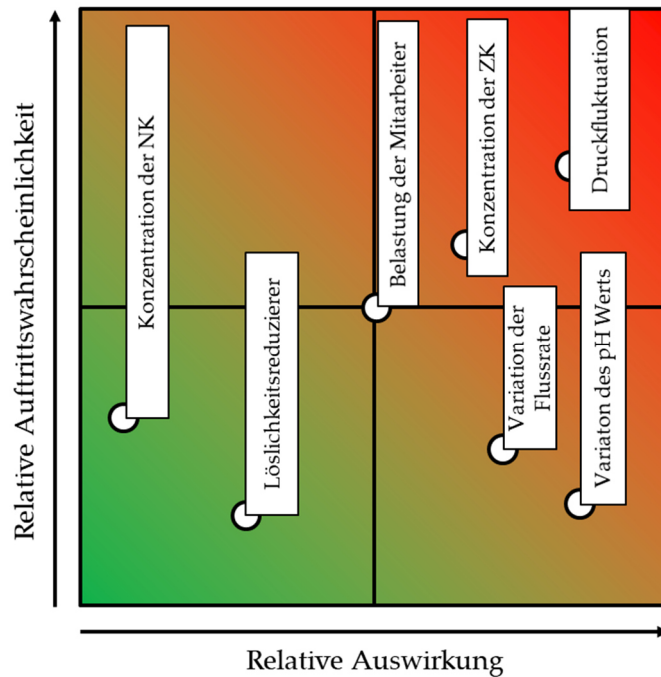


Abbildung 5.2: Risikoanalyse Ultrafiltration. Adaptiert von [Huter 2019a].

Als kritischste Einflüsse auf das System sind die Konzentration der Zielkomponente und die Druckschwankungen einzuordnen, da diese auf die Filtration den maßgeblichsten Einfluss haben. Die Einflüsse von Nebenkomponten sind in dem betrachteten Fall von geringerer Bedeutung, da diese vor allem im Fall von Antikörpern deutlich kleiner sind als die Zielkomponente und demnach die Membran passieren.

Mit dem Hintergrund dieser Analyse, welche auf Literatur und *Prior-Knowledge* basiert, wird das in Kapitel 3.2 erarbeitete Modell zunächst hinsichtlich seiner Sensitivitäten untersucht. Hierbei wird der Fokus auf den Einsatz im finalen Bereich eines Aufreinigungsprozesses gelegt, bei dem bereits eine hohe Proteinkonzentration vorliegt. Die unterschiedlichen Variationen werden in folgender Tabelle 5.1 genauer beschrieben. Die Sensitivitätsstudie betrachtet hierbei eine einzelne Filtrationsstufe bzw. eine Kassette, da das gesamte Modell eine Verschaltung einzelner Kassetten ist (siehe Abschnitt 3.2.).

Tabelle 5.1: Sensitivitätsstudienparameter für die Ultrafiltration. Adaptiert von [Huter 2019a].

| Variable | Einheit | Bereich | Erklärung |
|--------------------|------------------------|---------------|--|
| Feed Konzentration | (g/L) | 75 - 85 | Für eine mittlere Konzentration von 80 g/L wird eine Abweichung von 5 g/L angenommen, welche die Fluktuationen des Prozesses widerspiegelt. |
| Feed Volumenstrom | (mL/min) | 17 – 45 | Der minimale Durchsatz wurde auf 50 mL/min gesetzt. Daher entsprechen 17 mL der unteren Grenze für eine Kassette. Der maximale Druck (4 bar) wiederum wurde bei 45 mL pro Kanal erreicht, wodurch dies die obere Grenze darstellt. |
| Feed Druck | (bar) | 2,0 – 4,0 | 2 bar entspricht dem Druck bei 50 mL/min. Die obere Grenze entspricht dem vorgeschriebenen Maximaldruck von 4 bar. |
| Membranlänge | (dm) | 1,39 – 1,43 | Für Länge und Breite einer Kassette wurde eine Fertigungstoleranz von 2 mm angenommen |
| Membranbreite | (dm) | 0,34 – 0,38 | |
| Drag Koeffizienten | | | Für beide Drag Koeffizienten zur Berechnung des Dragfaktors wurden die Varianz einer anfänglichen Studie angenommen |
| X_c | (-) | 30 - 35 | |
| Y_c | (-) | -0,75 - -0,80 | |
| R_M | (1/m)·10 ¹² | 2,5 – 4,0 | Für den Membranwiderstand wurde ein typischer Bereich für solche Membrankassetten gewählt |
| R_{BL} | (1/m)·10 ¹² | 1 - 20 | Basierend auf Vorstudien wurde ein großer Bereich für den Grenzschichtwiderstand angenommen |

Die Ergebnisse dieser Sensitivitätsstudie werden für die unterschiedlichen Prozessvariablen in der nachfolgenden Abbildung 5.3 visualisiert. Gezeigt sind Pareto-Diagramme, die darstellen, inwieweit ein Prozessparameter einen Einfluss auf die Prozessvariable besitzt. Überschreitet der jeweilige Parameter die Signifikanzlinie, ist dieser als sensitiv zu betrachten. Die Farbe des Balkens stellt wiederum dar, ob der jeweilige Parameter einen positiven oder negativen Einfluss auf die Ausgangsvariable besitzt. Eine blaue Farbe zeigt einen positiven t-Wert, die rote hingegen repräsentiert einen negativen t-Wert. Als Prozessvariablen wurden der Volumetrische-Konzentrationsfaktor (VKF), der Flux (flächennormierter Permeatfluss), die Retentatkonzentration und der Druckverlust gewählt.

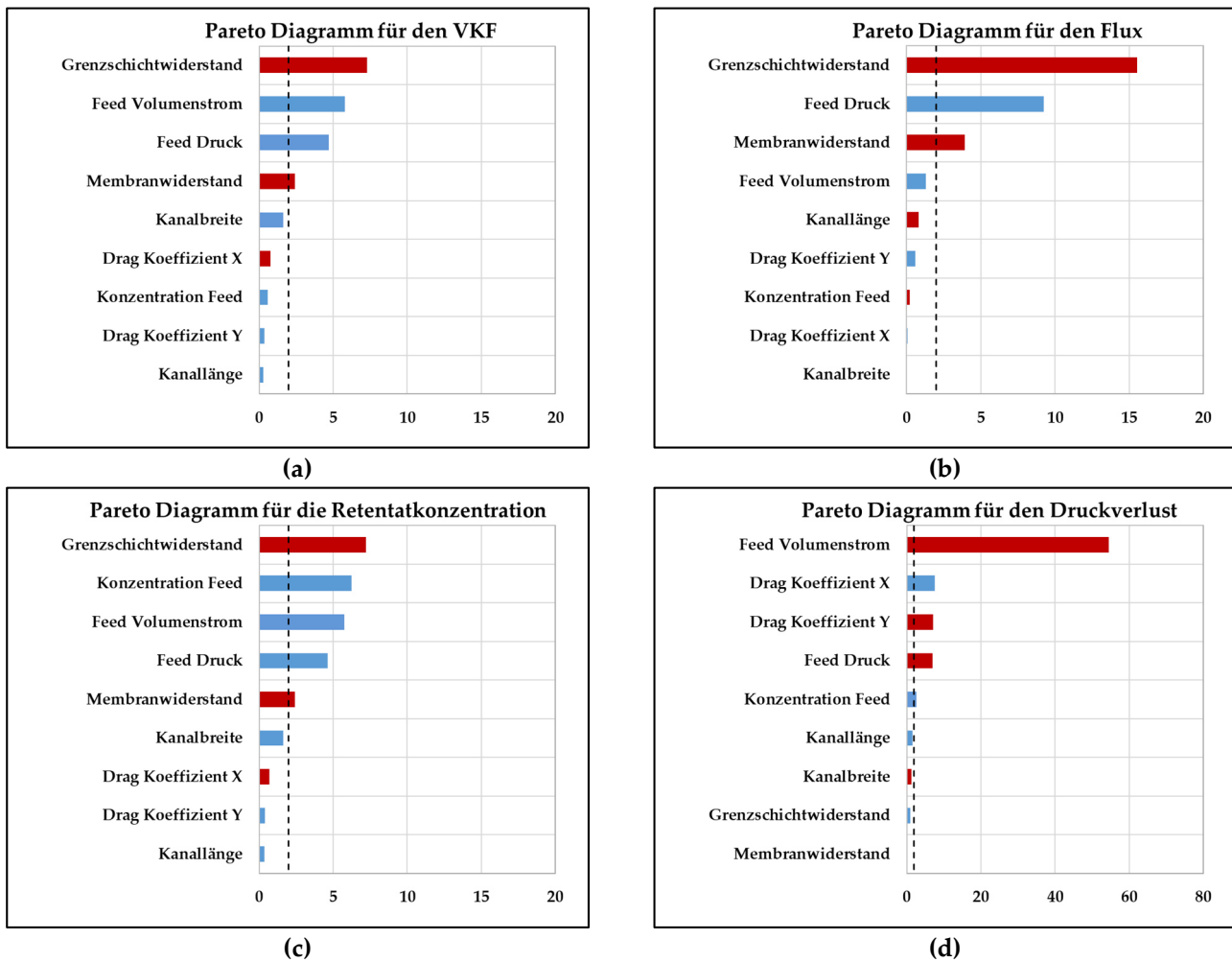


Abbildung 5.3: Sensitivitätsdiagramme für (a) Volumetrischer Konzentrationsfaktor (b) Flux (c) Retentatkonzentration (d) Druckverlust. Adaptiert von [Huter 2019a].

Wie aus den obenstehenden Diagrammen erkenntlich wird, besitzen sowohl der Grenzschichtwiderstand als auch der Volumenstrom große Ausschläge bei allen Prozessvariablen. Sie stellen somit die signifikantesten Prozessparameter dar und benötigen eine akkurate Bestimmung. Obwohl die Drag Koeffizienten in erster Instanz nur einen signifikanten Einfluss auf den Druckverlust besitzen, muss berücksichtigt werden, dass der Druckverlust einer vorangehenden Filtrationsstufe der Feeddruck einer sequenziellen Kassette ist. Somit sind die Koeffizienten auch signifikant für die anderen Prozessgrößen. Für den Ultrafiltrationsschritt ist demnach festzuhalten, dass keine der genannten Prozessparameter vernachlässigt werden können und diese mit hoher Genauigkeit bestimmt werden müssen.

5.1.2 Parameterbestimmung

Im ersten Schritt werden die Membrankassetten charakterisiert. Hierzu wird einerseits die effektive Fläche bestimmt und auf der anderen Seite wird der Screen charakterisiert. Zu diesem Zweck muss der Screen aus dem Kassettenmodul herausgeschnitten werden. Alternativ kann, da der Permeatscreen oftmals auch dem Retentatscreen entspricht, zerstörungsfrei vorgegangen werden, indem die oberste Ebene ausgewertet wird. Beispielhafte Mikroskop-Aufnahmen sind hierfür in Abbildung 5.4 dargestellt.

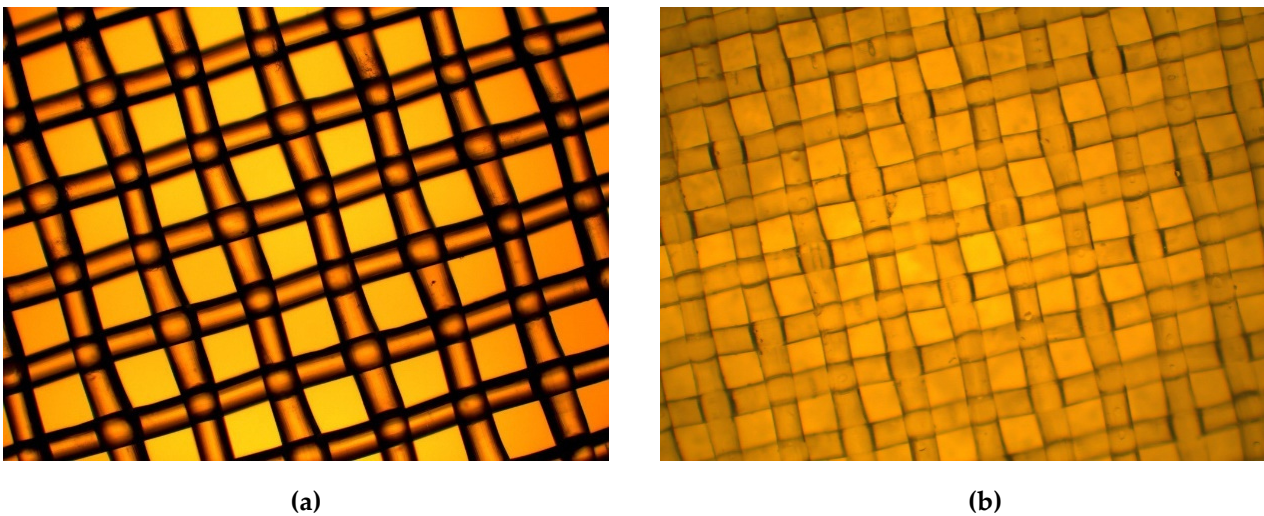


Abbildung 5.4: 4x vergrößerte Aufnahmen von Screens a) Repligen TangenX™ L-Screen (ausgeschnitten)
b) Pall T01-Screen (Permeatscreen gemessen).

Zu erkennen ist eine regelmäßige Wabenstruktur, mit deren Informationen über Abstände, Fadendicke und Winkel sich ein hydraulischer Durchmesser berechnen lässt [Da Costa 1994]. Anschließend wurden die Clean Water Resistance Tests (CWRTs) durchgeführt, die einerseits zu den Drag Faktoren führten und andererseits benutzt wurden, um den intrinsischen Membranwiderstand zu bestimmen. Die für diverse Kassetten bestimmten Daten sind in Tabelle 5.2 aufgelistet. Ein Beispielhafter Verlauf des Drag Koeffizient gegenüber der Reynoldszahl ist in Abbildung 5.5 dargestellt. Hierbei wurden von beiden 30 kDa Varianten von Pall und Repligen drei Kassetten des gleichen Typs getestet, während die anderen Kassetten lediglich singulär vorlagen.

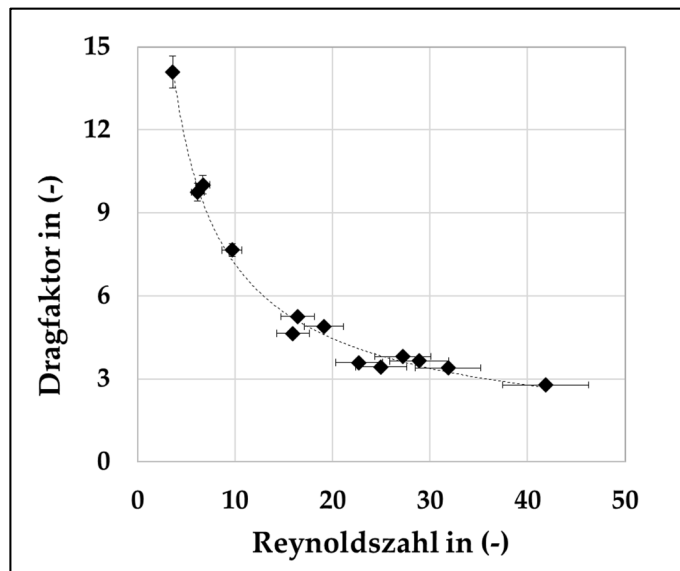


Abbildung 5.5: Ermittlung der Drag Koeffizienten für die Pall T01 30 kDa. Adaptiert von [Huter 2019a].

Zu erkennen ist ein exponentieller Anstieg des Dragfaktors bei niedrigen Reynoldszahlen. Da bei der SPTFF niedrige Flussraten vorliegen, ist es besonders wichtig langsame Strömungsregime beschreiben zu können.

Tabelle 5.2: Geometrische Parameter und Membranwiderstand von einzelnen Membrankassetten.

| Kassettentyp | Effektive Fläche [m ²] $\cdot 10^2$ | d_H [m] $\cdot 10^4$ | X_D [-] | Y_D [-] | R_{Mem} [1/m] $\cdot 10^{12}$ |
|---------------------------------|--|---------------------------|--------------|--------------|------------------------------------|
| Repligen | | | | | |
| TangenX Pro 10 kDa –L-Screen | 1,01 | | | | 3,0 |
| TangenX Pro 30 kDa –L-Screen | 1,01 | 1,24 | 32 | -0,77 | 2,25 \pm 0,4 |
| TangenX Pro 50 kDa –L-Screen | 1,01 | | | | 1,02 |
| Pall | | | | | |
| T01 30 kDa | 1,01 | 1,01 | 36,8 | -0,68 | 3,3 \pm 0,4 |
| Merck-Millipore | | | | | |
| Pellicon®3 30 kDa C-Screen | 0,88 | - | - | - | 2,4 |

*Der Bestimmtheitsgrad beträgt für alle Widerstände hierbei 0,99.

Zu erkennen ist, dass der Membranwiderstand zwischen den Anbietern durchaus variiert. Ebenfalls zeigen die unterschiedlichen TangenX Kassetten, dass durch kleinere Poren ein höherer Widerstand gegeben ist als bei großen Poren. Generell ist aber zu erkennen, dass im Falle der 30 kDa Kassetten Widerstandswerte zwischen 2 und 4 $\cdot 10^{12}$ 1/m annehmen. Im Falle einer

mehrstufigen SPTFF wurde zusätzlich überprüft, ob durch die Parallelstrukturen unterschiedlicher Stufen ein signifikanter Unterschied zu der Einzelkassette vorliegt. Dies wurde im Rahmen dieser Arbeit anhand der TangenX 30 kDa durchgeführt. In Tabelle 5.3 werden hierbei der Membranwiderstand unterschiedlicher Aufbauten verglichen.

Tabelle 5.3: Vergleich des Membranwiderstands für Parallelstrukturen für die TangenX Pro 30 kDa. Adaptiert von [Huter 2019b].

| | 1 Kassette | 2 Kassetten | 3 Kassetten |
|-----------------------------------|------------|-------------|-------------|
| R_M [1/m] · 10 ¹² | 2,25 ± 0,4 | 2,38 | 2,28 |

An den obenstehenden Werten ist zu erkennen, dass die Abweichungen des Membranwiderstands von Parallelaufbauten innerhalb der Toleranz einzelner Kassetten liegen. Damit ist davon auszugehen, dass die Parallelstrukturen keine signifikanten Abweichungen besitzen. Damit wird die getroffene Annahme bestätigt, dass parallele Membranen äquivalent zu berechnen sind.

Aufbauend auf diesen Daten, welche auf der Beschaffenheit der Membranen basieren, werden im folgenden Schritt die lösungsbasierenden Charakteristiken bestimmt. In einer ersten Studie wurde eine niedrig konzentrierte Proteinlösung mit einem monoklonalen Antikörper betrachtet. Diese Lösung wurde aus einer wässrigen zwei-Phasen Extraktion erlangt und besitzt durch hohe Salzgehalte und den Einsatz von Polyethylenglycolen eine gesteigerte Dichte und Viskosität. Im Falle der niedrig konzentrierten IgG-Lösung wurde hierfür die dynamische Viskosität und die Dichte bestimmt, welche sich in dem betrachteten Bereich als statisch erwies. Der Wert der Dichte lag bei 1,1 kg/L und die dynamische Viskosität bei $7,6 \pm 0,4$ mPa·s. In einem ersten Schritt musste überprüft werden, ob eine vollständige Retention vorlag. Aus diesem Grund wurden in der nachfolgenden Abbildung 5.6 die SEC-Diagramme aller Ströme mit einem IgG-Standard verglichen.

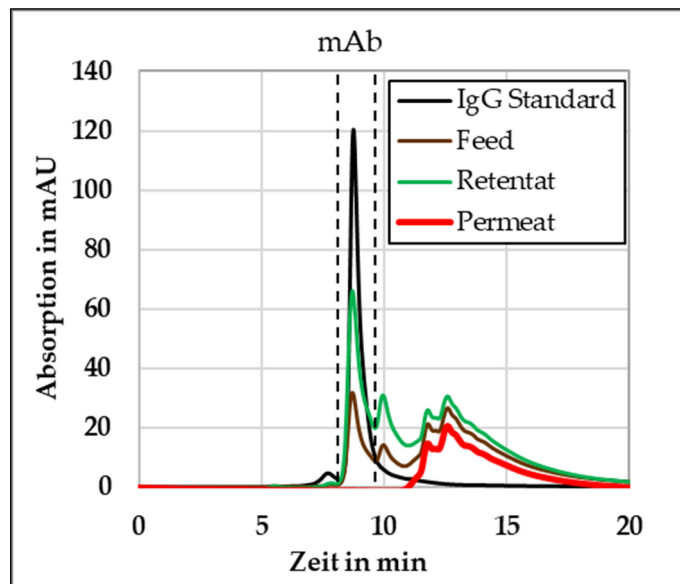


Abbildung 5.6: SEC-Diagramme für unterschiedliche IgG-Lösungen. Adaptiert von [Huter 2019b].

In der obenstehenden Abbildung zeigt sich, dass die Zielkomponente eine Retentionszeit von ca. 9 min besitzt. Weiterhin wird deutlich, dass in der Permeatlösung das gewünscht Molekül nicht vorliegt, da hier das erste Signal ab ca. 11 min detektiert wurde. Dementsprechend ist die These der vollständigen Retention bestätigt und ein Übergang in den Permeatstrom muss nicht berücksichtigt werden.

Im nächsten Arbeitsschritt muss überprüft werden, ob das OPM ausreicht, um den Filtrationsprozess sowohl korrekt abbilden sowie vorhersagen zu können. Zu diesem Zweck wird die Filtrationsleistung für Wasser und der leichten Phase verglichen bei diversen Transmembrandrücken (siehe Abbildung 5.7 (a)). In Abbildung 5.7 (b) ist der Grenzflächenwiderstand in Abhängigkeit des Transmembrandrucks als Haupttriebkraft angegeben. Dieser sollte, sofern das OPM anwendbar ist, den Wert 0 1/m annehmen.

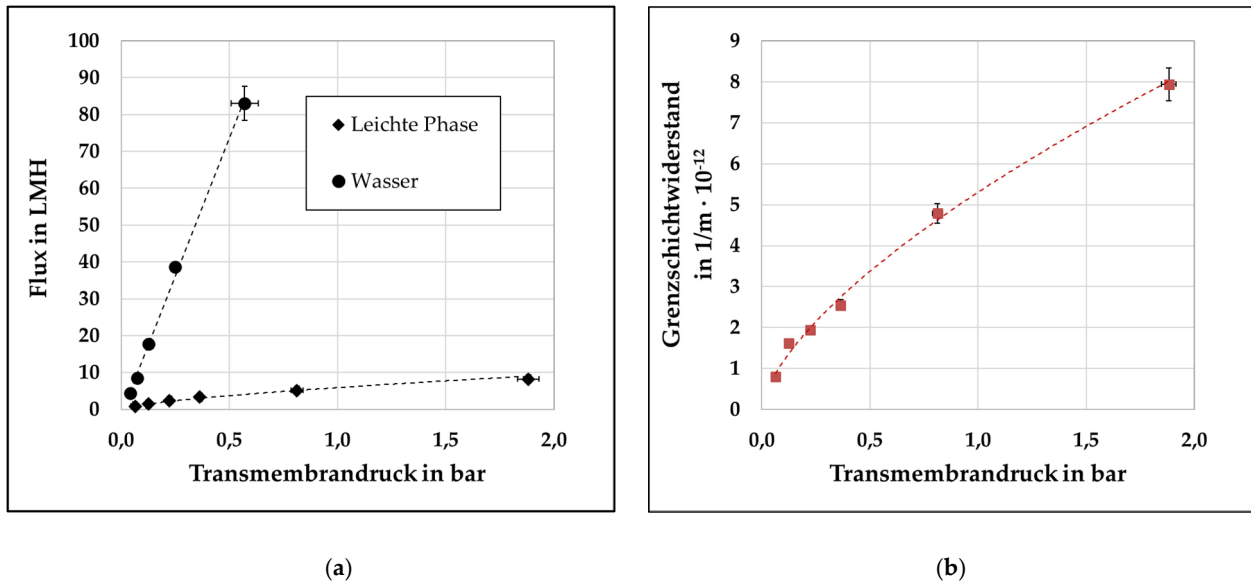


Abbildung 5.7: (a) Vergleich der Filtrationsleistung von Wasser und leichter Phase (b) Entwicklung des Grenzsichtwiderstands über den Transmembrandruck. Adaptiert von [Huter 2019b].

Es wird deutlich, dass der Flux bereits in dem niedrigen Druckbereich um ein Vielfaches gemindert (bei 0,25 bar ca. Faktor 10) wird. Dies deutet auf einen hohen Widerstand hin, der auch im rechten Diagramm visualisiert wird. Dieser nimmt bereits bei einem Transmembrandruck von 2 bar den 3-fachen Wert des intrinsischen Membranwiderstands an. Für die Modellierung der niedrig konzentrierten Proteinlösung wurde deswegen folgende Korrelation aufgestellt:

$$R_{BI} = X_R \cdot TMP^{Y_R} \quad 5.1$$

Mit 5,31 für X_R und 0,65 für Y_R bei einem R^2 von 0,99.

Im Falle der hochkonzentrierten BSA-Lösung konnte der Designspace für den Filtrationsschritt deutlich erweitert werden. Durch den geringeren Gegendruck im System wurden signifikant höhere Volumenströme im System erreicht. Um nun eine Beschreibung für den Grenzsichtwiderstand zu erlangen, wurde nicht nur der Transmembrandruck als Haupttriebkraft in der Korrelation berücksichtigt, sondern einerseits die BSA-Konzentration sowie die Reynoldszahl in Anlehnung der in [Baker 2012] gezeigten Einflüsse auf die Konzentrationspolarisation auf der anderen Seite. In Abbildung 5.8 ist die Veränderung des Grenzsichtwiderstands über die genannten Einflüsse aufgetragen.

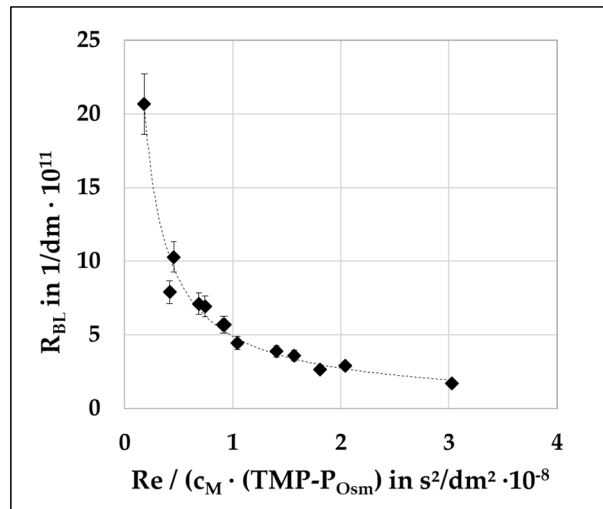


Abbildung 5.8: Grenzschriftwiderstand für hochkonzentrierte Proteinlösungen. Adaptiert von [Huter 2019a].

Bei dem dargestellten Verlauf führen eine hohe Strömungsgeschwindigkeit bzw. Reynoldszahl zu einer Verringerung des Widerstands. Im Gegensatz steigt der Widerstand proportional zur Konzentration. Analog zur Studie mit dem monoklonalen Antikörper führt eine Erhöhung des Transmembrandrucks zu einer Vergrößerung des Widerstands. Die Korrelation nimmt demnach die folgende Form an:

$$R_{BI} = X_R \cdot \left(\frac{Re}{c_M \cdot (TMP - P_{Osm})} \right)^{Y_R} \quad 5.2$$

Mit $8694 \frac{g^2 \cdot s^2}{dm^5}$ für X_R und $-0,84$ für Y_R bei einem R^2 von $0,97$.

5.1.3 Modellvalidierung

Als Überprüfung für die Anwendbarkeit des Modells, wurde in einem ersten Schritt die Filtration von Wasser überprüft. Die Veränderungen in Abhängigkeit der Proteinkonzentration werden vorerst nicht betrachtet, um die vielfältigen Annahmen zu bestätigen. Die dynamische Viskosität besitzt einen konstanten Wert von $1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$, die Dichte beträgt 1 kg/L und der Grenzschriftwiderstand ist nicht existent. Für diese Versuchsreihe wurden die Repligen TangenX Pro 30 kDa verwendet. Hierbei wurden zuvor ermittelten Daten auf einen 3-2-1-1 SPTFF-Aufbau angewendet. In Abbildung 5.9 werden hierfür Experimente bei drei verschiedenen Flussraten mit dem Modell verglichen. Die x-Achse beschreibt die Länge des Filtrationsweges. Im Falle der verwendeten TangenX Kassetten entspricht jede Stufe 14.5 cm . Die experimentellen Werte von Flux und Transmembrandruck werden hierbei als Durchschnittswert

über die jeweilige Kassettenstufe basierend auf den Messungen der Eingangs- und Ausgangsdrücke sowie den detektierten Massenflüssen dargestellt. Die simulierten Werte wiederum geben den Verlauf zwischen diesen Punkten dar.

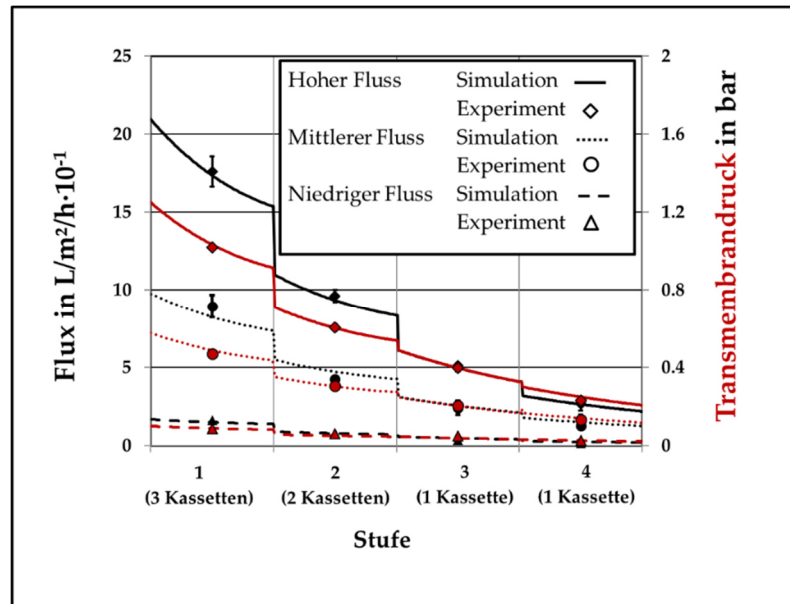


Abbildung 5.9: Vergleich zwischen Experimenten und Simulationen für Wasser. Adaptiert von [Huter 2019b].

Wie in der obenstehenden Abbildung zu erkennen ist, stimmen die simulierten und die experimentellen Werte stark überein. *Anmerkung:* Die Sprünge zwischen den einzelnen Stufen werden durch die Massenflussmesser, welche sich bei diesem Aufbau zwischen den unterschiedlichen Membranhaltern befanden, hervorgerufen. Auch wenn minimale Abweichungen zu erkennen sind, ist es demnach möglich die Filtration von Wasser vorhersagen zu können. Der Transfer von Werten einer Einzelkassette kann demnach auf das komplexe, mehrstufige System vollzogen werden.

Für die Auswertung der SPTFF Versuche wurde zunächst überprüft, ab welchem Zeitpunkt ein statisches Verhalten vorliegt. Hierfür ist in Abbildung 5.10 der Verlauf der gemessenen Konzentrationen und des Drucks dargestellt. Während der Druck mittels Druckmesser bestimmt wurde, wurde die Konzentrationen einerseits mittels Protein A Chromatographie und andererseits über Waagen ermittelt.

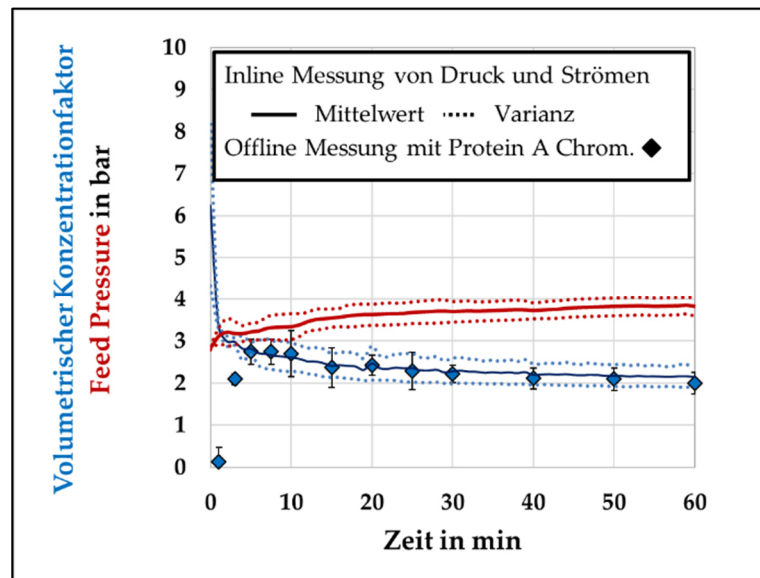


Abbildung 5.10: Versuchsverlauf mAb-Filtration. Adaptiert von [Huter 2019b].

Über die Verläufe des volumetrischen Konzentrationsfaktors (blau) ist zu erkennen, dass nach ungefähr 5 min die ermittelten Werte über Protein A Chromatographie und Waagen übereinstimmen. Für den Feed-Druck lässt sich ab Minute 10 ein nahezu statischer Verlauf des Filtrationsprozesses erkennen. Da die SPTFF einen kontinuierlichen Prozess repräsentiert, wurde für die Modellvalidierung der Mittelwert ab diesem Zeitpunkt genommen, auch wenn eine leichte Abnahme der Filtrationsleistung zu erkennen ist. Für den Feed-Volumenstrom ergab sich aus allen Versuchen ein durchschnittlicher Wert von $23,8 \pm 0,9$ mL/min bei einem Druck von $3,70 \pm 0,23$ bar. Für die Startkonzentration wurde ein Wert von $2,8 \pm 0,17$ g/L über die Protein A-Analyse ermittelt. Die Ergebnisse und der Vergleich von Experimenten zum Modell sind in Abbildung 5.11 visualisiert bzw. in Tabelle 5.4 dargestellt. Im Gegensatz zur Abbildung 5.9 ist in der untenstehenden Abbildung zusätzlich die Konzentration (blau) und die Konzentration an der Membran (orange) aufgetragen. Die Konzentration an der Membranwand wiederum ist keine messbare Größe und demnach nur ein theoretischer Wert, der mittels SFM bestimmt wird. Im Gegensatz zu Flux und Transmembrandruck wird die Konzentration bei den Experimenten zwischen den jeweiligen Stufen gemessen.

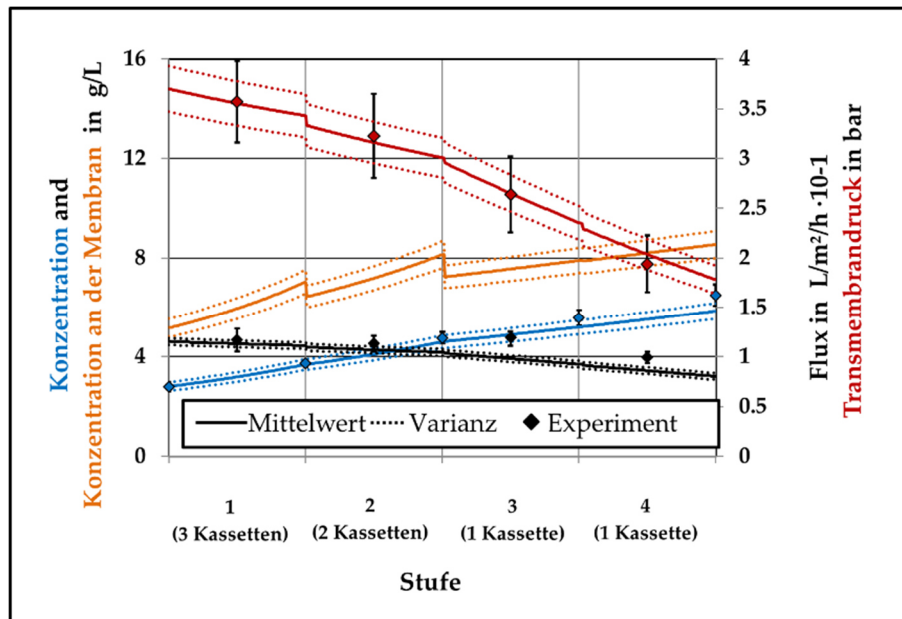


Abbildung 5.11: Vergleich axialer Profile Experiment und Simulation für niedrig konzentrierte mAb-Filtration. Adaptiert von [Huter 2019b].

Tabelle 5.4: Vergleich von VKF und Druckverlust für niedrig konzentrierte Proteinlösung. Adaptiert von [Huter 2019b].

| | VKF (-) | Druckverlust (bar) |
|-------------------|-------------|-----------------------|
| Experiment | 2,31 ± 0,12 | 2,04 ± 0,1 |
| Modell Vorhersage | 2,10 ± 0,11 | 1,80 ± 0,1 |
| Differenz | 9 % | 11 % |

Aus dem Diagramm wird ersichtlich, dass es mit den ermittelten Parametern möglich ist, den Filtrationsprozess vorherzusagen. Die experimentellen Werte zeigen eine große Überschneidung mit denen aus der Simulation. Lediglich für die letzten beiden Stufen wird eine niedrigere Filtrationsleistung vorhergesagt, wodurch die Endkonzentration zwischen Experiment und Modell abweicht. Ebenso zeigt sich, dass ab Stufe 3 ein deutlich verstärkter Druckverlust im Vergleich zu Stufe 1 und 2 zu detektieren ist. Dies bietet einen möglichen Ansatz das System zu optimieren. Im Falle des Druckverlusts wird ein 11 % geringerer Wert vom Modell vorhergesehen, als es bei den Experimenten zu erkennen ist. Auch der VKF liegt um 9 % niedriger als in den Experimenten. Dennoch bleibt festzuhalten, dass sich das Vorgehen eignet, um einen Filtrationsschritt vorherzusagen.

Die auf diesen Ergebnissen basierende Folgestudie für hohe Konzentrationen mit BSA als Zielprotein wurde ebenfalls anhand des 3-2-1-1 Aufbaus validiert. Der Vergleich der Experimente und der Simulationen ist in Abbildung 5.12 dargestellt. Da in dieser Studie die T01 von Pall verwendet wurde, entspricht eine Stufe der x-Achse 14,1 cm. Die Feedparameter lagen bei $2,98 \pm 0,02$ bar Feeddruck sowie einer Feedfluss-geschwindigkeit von $68,4 \pm 1,2$ mL/min und der Proteinkonzentration von 80 g/L BSA.

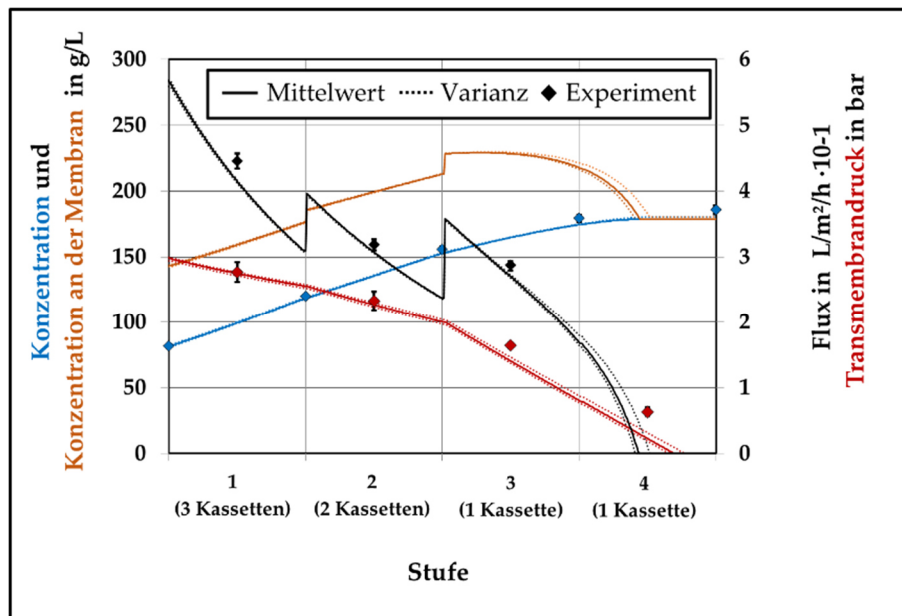


Abbildung 5.12: Vergleich axialer Profile von Experiment und Simulation für hochkonzentrierte Proteinlösungen.

Adaptiert von [Huter 2019a].

Ebenso wie bei der Studie für niedrigkonzentrierte Proteine, zeigt sich eine gute Übereinstimmung zwischen vorhergesagten und experimentellen Werten. Auch wenn eine geringfügige Abweichung bei der Berechnung des Fluxes vorherrscht, liegen die gemessenen Konzentrationen und die mit Hilfe der Simulation vorhergesagten sehr nah beieinander. Durch das Entfernen der inline Massenflussmesser in dieser Studie gehen die Verläufe von Flux und Transmembrandruck zwischen Stufe 3 und 4 ineinander über, da hier keine Veränderung des Retentatstroms vorliegt. Es ist weiterhin zu erkennen, dass beginnend mit dem Ende der dritten Stufe die Differenz zwischen Konzentration an der Membran (orange) und der Konzentration im Kanal (blau) sichtbar schwindet, wodurch Filtrationswiderstände sinken und die Filtrationsleistung sich bessern müsste. Begründet ist dieser Effekt hingegen dadurch, dass mit

dem Druckverlust im Retentatkanal der Transmembrandruck, also die Triebkraft für den Prozess, fällt. Sobald auf Retentat- und Permeatseite der gleiche Druck vorliegt und somit kein Flux mehr durch die Membran stattfindet, entspricht die Konzentration an der Membran der im Retentat (siehe Gleichung 3.3). Die Werte beider Zielgrößen VKF und Druckverlust werden in der nachfolgenden Tabelle 5.5 aufgelistet.

Tabelle 5.5: Vergleich von VKF und Druckverlust für hochkonzentrierte Proteinlösung.

Adaptiert von [Huter 2019a].

| | VKF (-) | Druckverlust (bar) |
|-------------------|-----------------|-----------------------|
| Experiment | $2,31 \pm 0,12$ | $2,92 \pm 0,01$ |
| Modell Vorhersage | $2,19 \pm 0,12$ | $3,00 \pm 0,00$ |
| Differenz | 5,2 % | 2,8 % |

Zu erkennen ist, dass im Vergleich zu der vorangegangenen Studie die Abweichungen geringer ausfallen und lediglich im VKF um 5,2 % abweichen. Mit Betrachtung der Sensitivitäten, die in Abschnitt 5.1.1 beschrieben werden, zeigt sich, dass das Modell in der Lage ist, den Prozess mit einer hohen Genauigkeit vorherzusagen. Basierend auf diesen Ergebnissen ist es möglich, modellbasierte Optimierungsstudien durchzuführen.

5.1.4 Modellbasierte Optimierung

Für hochkonzentrierte BSA Lösungen soll das Modell nun verwendet werden, um eine Optimierung durchzuführen. Hierfür werden die Betriebsparameter (Druck und Volumenstrom der Feeds) untersucht und zusätzlich die Konfiguration der SPTFF. Da Druck und Volumenstrom direkt voneinander abhängig sind reduziert sich die aktive Betriebsparameteranzahl auf einen einzigen. Im Falle dieser Studie wurde der Feeddruck als Referenzgröße gewählt und der Feedstrom für die unterschiedlichen Setups anhand von Vorversuchen geschätzt. Hierfür wurde angenommen, dass der VKF für jede Stufe ca. bei 1,3 liegt und der Druckverlust über alle Stufen dem Feeddruck entspricht. Als unterschiedliche Konfigurationen wurden diverse Varianten, welche zwischen 6 und 8 Membrankassetten verwenden, betrachtet. Die Ergebnisse dieser Simulationsstudien werden in Abbildung 5.13 a – d visualisiert und sind an die Optimierungsprozedur von [Pall Life Sciences 2014] angelehnt.

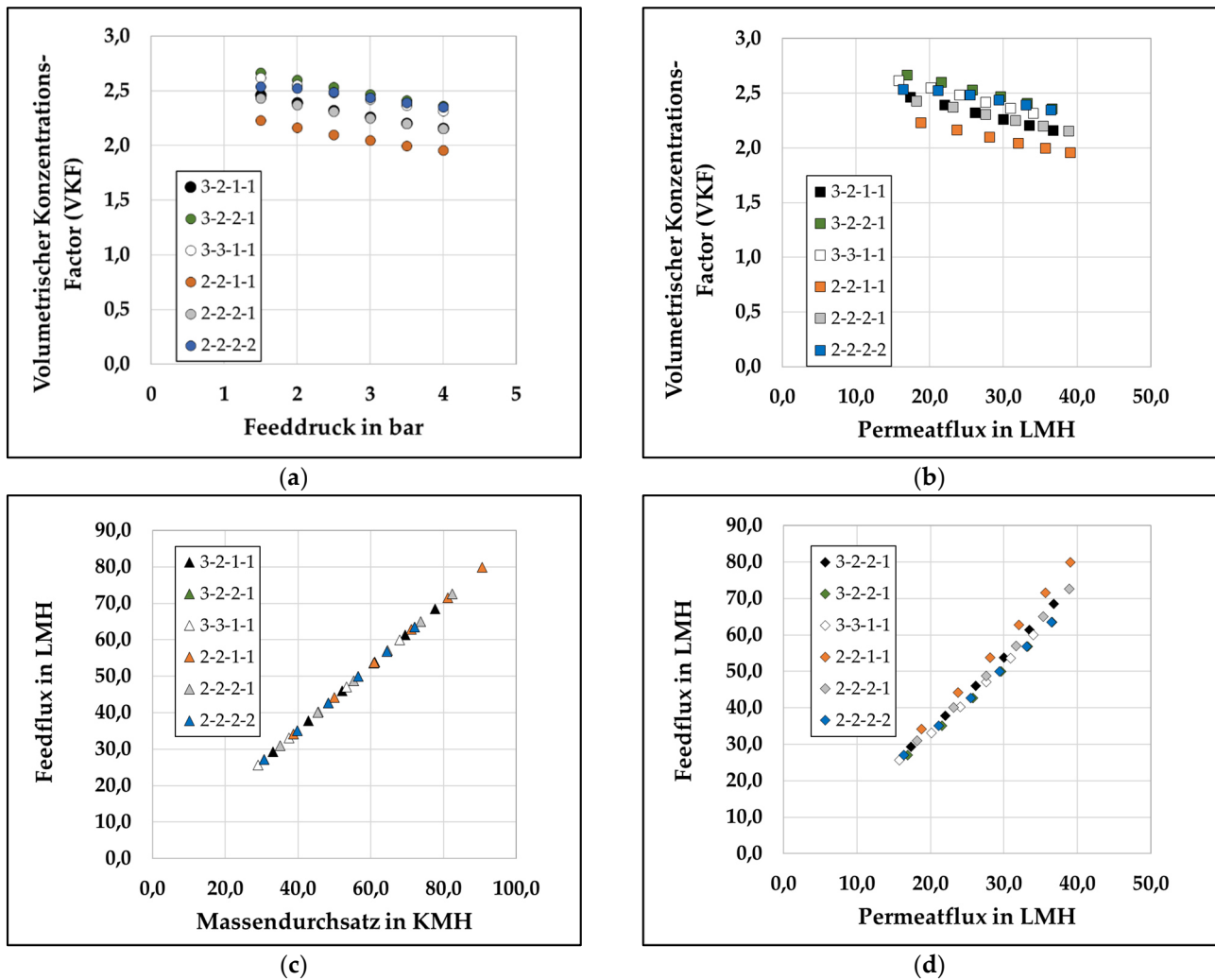


Abbildung 5.13: Simulierte Werte für unterschiedlichen Aufbauten a) Volumetrischer Konzentrationsfaktor vs. Feeddruck b) Volumetrischer Konzentrationsfaktor vs. Permeatflux c) Feedflux vs. Permeatflux d) Feedflux vs. Permeatflux. Adaptiert von [Huter 2019a].

Abbildung 5.13a zeigt, dass die Erhöhung des Feeddrucks nicht zu einer Erhöhung des Konzentrationsfaktors führt. Ebenso reduziert sich der VKF bei höherem Permeatflux. Dies wiederum liegt daran, dass der Feedflux für jedes Setup schneller steigt als der des Permeats. Bezogen auf die Auswahl des SPTFF Setups ist festzustellen, dass die 3-2-2-1 Variante zu den besten Ergebnissen hinsichtlich VKF führt. Generell lässt sich konstatieren, dass sich der Konzentrationsfaktor maßgeblich durch die Anzahl der Membranen erhöht und die Konfiguration nur von sekundärer Bedeutung ist. Auch ist der Feeddruck so niedrig wie möglich zu wählen, um die höchste Produktkonzentration zu erreichen. Diese Ergebnisse decken sich mit den qualitativ dargestellten Daten in [Pall Life Sciences 2014].

Im letzten Schritt wird nun der optimale Prozess, welcher in diesem Fall der mit dem höchsten VKF ist, mittels Experimenten verglichen (siehe Abbildung 5.14 und Tabelle 5.6). Da für diese Studie der Volumenstrom lediglich geschätzt wurde, wird für den Vergleich der Wert aus dem durchgeführten Experiment verwendet. Bei $1,97 \pm 0,03$ bar Feed Druck resultierten $51,8 \pm 0,4$ mL/min.

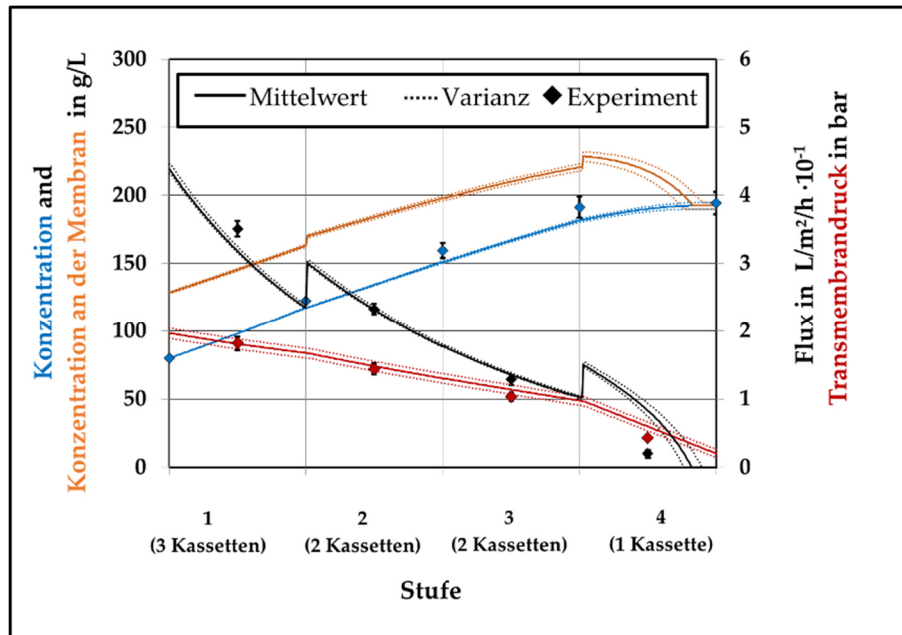


Abbildung 5.14: Vergleich axialer Profile von Experiment und Simulation für den optimierten Prozess. Adaptiert von [Huter 2019a].

Tabelle 5.6 Vergleich von VKF und Druckverlust für den optimierten Prozess. Adaptiert von [Huter 2019a].

| | VKF (-) | Druckverlust (bar) |
|-------------------|-----------------|-----------------------|
| Experiment | $2,44 \pm 0,07$ | $1,94 \pm 0,08$ |
| Modell Vorhersage | $2,44 \pm 0,03$ | $1,79 \pm 0,02$ |
| Differenz | 0 % | 8 % |

Wie bereits in den Validierungsexperimenten stimmen auch in diesem Fall vorhergesagte und experimentelle Werte gut überein. Auch wenn der Druckverlust mit einer Abweichung von 8 % etwas höher liegt, gleichen sich die Endkonzentrationen von Experiment und Modell. Ein Vergleich der in Abbildung 5.14 visualisierten Datenpunkte zeigt, dass in der ersten Stufe der Flux etwas zu niedrig kalkuliert wurde, wodurch die Konzentration auch etwas geringer ausfällt. Dadurch, dass der Druckverlust über die ersten 3 Stufen hingegen geringer ausfällt, wird durch

einen deutlich größeren Flux in der letzten Stufe die Konzentrationsdifferenz wieder ausgeglichen. Dies ist ebenfalls daran zu erkennen, dass im Gegensatz zu Abbildung 5.12 die Konzentration an der Membran (orange) erst in der vierten Stufe beginnt zu sinken und nicht bereits in der dritten Filtrationsstufe. Dieser Abfall der Konzentration ist hierbei ebenfalls dadurch bedingt, dass der Permeatflux durch den starken Druckverlust in der Kassette auf null fällt und somit beide Konzentrationen zusammenfallen.

Auch wenn die Simulationsstudie einen noch höheren Konzentrationsfaktor vorhergesehen hat, sind die Tendenzen ähnlich. Durch den niedrigeren Druck und die höhere Anzahl an Kassetten kann der VKF erhöht werden.

Der finale Schritt, wie in der Einleitung beschrieben, ist die Bestimmung der Korrelation zwischen Betriebsparametern und resultierenden Prozessvariablen. Durch den Einsatz von Monte-Carlos Simulationen und der statistischen Evaluierung mittels Partial Least Square (PLS) Regression wurde Abbildung 5.15 erstellt. Bei diesem Diagramm handelt es sich um einen *Correlation Loading Plot*, in dem die schwarzen Punkte Prozessparameter und die roten Punkte Prozessvariablen darstellen. Durch die Extraktion der „*Principal Components*“ von den Parametern und Zielgrößen mittels PLS, kann das Maximum der Kovarianz zwischen Vorhersage und Antwort erklärt werden. Auch wenn zwei Faktoren oftmals nicht ausreichen, um 100 % der Varianz zu beschreiben, werden für den veranschaulichenden Plot die zwei Faktoren verwendet, die den meisten Einfluss besitzen. Zusätzlich sind für das Verständnis zwei Ringe eingezeichnet, die einerseits für 50 % (gepunktet) sowie 100 % der Varianz (durchgezogene Linie) stehen.

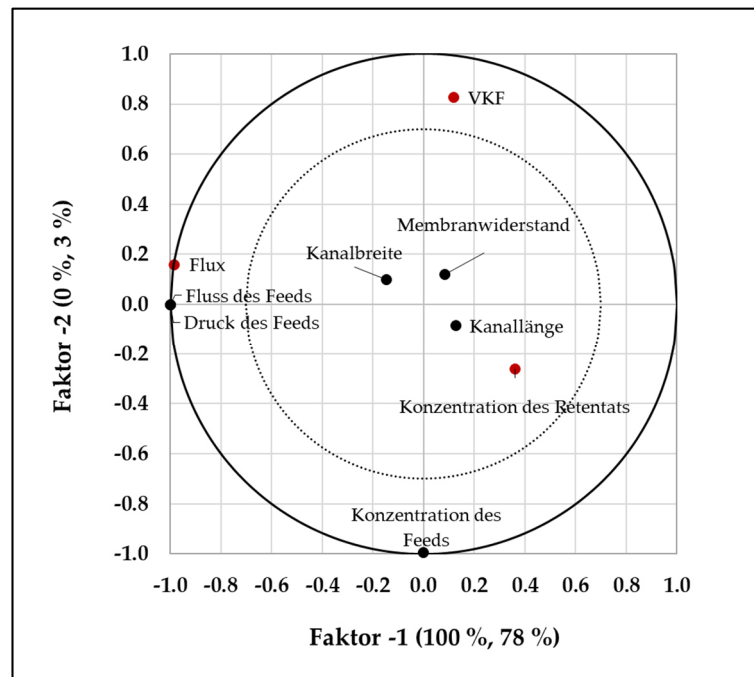


Abbildung 5.15: Correlation-loadings Plot zur Veranschaulichung der Variablenabhängigkeiten basierend auf Monte-Carlo Simulationen. Adaptiert von [Huter 2019a].

Der Flux korreliert hauptsächlich mit Faktor 1, da dieser eine deutliche Abweichung vom 0 Wert von Faktor 1 hat, hingegen nur geringfügig von Faktor 2. Der VKF hingegen korreliert verstärkt mit Faktor 2. Die Retentatkonzentration wiederum wird von beiden ähnlich stark affektiert. Das Verhältnis zwischen Parameter und Variable zeigt, dass der Flux positiv mit Feeddruk und Volumenstrom korreliert. Das bedeutet, dass wenn diese beiden Werte hoch sind, dieser ebenfalls steigt. VKF und Retentatkonzentration wiederum korrelieren negativ mit diesen beiden Betriebsparametern. Diese Ergebnisse decken sich mit den Erkenntnissen aus den experimentellen Teilen. Ebenfalls ist es logisch, dass der VKF umso geringer ist, je höher die Startkonzentration liegt, da die Filtrationsleistung gemindert wird, was sich mit den Experimenten zur Parameterbestimmung deckt. Ähnlich wie in den Sensitivitätsstudien zeigt sich, dass die geometrischen Toleranzen und auch der intrinsische Membranwiderstand nur geringe Einflüsse besitzen. Hauptsächlich sind Druck und Volumenstrom sowie Konzentration relevant für das Filtrationssystem.

5.1.5 Vergleich zu dem kommerziellen SPTFF-Kit

In einer letzten Studie wurden nun die Ergebnisse aus den vorherigen Arbeiten angewendet, um sie auf ein Komplettsmodul ohne Separation der Stufen zu übertragen. Hierzu wurden die Experimente mit einem Cadence™ Single-Pass TFF Modular Kit durchgeführt, bei dem die gleichen Membranen wie in der vorherigen Studie zum Einsatz kamen. Da es sich um ein Komplettsmodul handelt, sind keine Druckmesser zwischen den jeweiligen Stufen platziert und daher nur Feed-, Retentat- und Permeatdruck messbar. Die Strömungsführung wird durch die Dichtungen zwischen den Membrankassetten gewährleistet. Allgemein war zu beobachten, dass das Verhältnis von Feeddruck zu Volumenstrom von der vorherigen Optimierungsstudie abwich. Bei gleichem Volumenstrom wurde ein höherer Druck gemessen, was darauf hinweist, dass der Retentat Ausgang einen geringeren Durchmesser als 1/8" besitzt. Bei 3 bar Feeddruck wurden nur noch 57 mL/min festgestellt und für 2 bar reduzierte sich der Volumenstrom auf 49 mL/min. In Tabelle 5.7 ist hierfür der Vergleich zwischen Modell und Experiment beschrieben. Für die Simulationen wurden die Startwerte aus den Experimenten genommen, um auch hier die Vergleichbarkeit zu erhöhen.

Tabelle 5.7: Vergleich zwischen Experiment und Modell für das SPTFF Kit.

| | Validierungsexperiment | | Optimierter Prozess | |
|------------------|------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|
| | VKF (-) | Druckverlust (bar) | VKF (-) | Druckverlust (bar) |
| Experiment | $2,37 \pm 0,02$ | $2,84 \pm 0,1$ | $2,41 \pm 0,05$ | $1,98 \pm 0,01$ |
| Model Vorhersage | $2,46 \pm 0,05$ | $2,66 \pm 0,1$ | $2,48 \pm 0,02$ | $1,69 \pm 0,02$ |
| Differenz | 4,7 % | 6,4 % | 3,1 % | 10 % |

Wie schon in den Studien zuvor, bei denen die unterschiedlichen Stufen separiert wurden, zeigt sich, dass das Modell in der Lage ist den VKF mit maximal 5 % Abweichung vorherzusagen. Weiterhin zeigt sich, dass das Modell in beiden betrachteten Fällen eine bessere Trennleistung prognostiziert, als in der Realität gemessen wird. Aus offensichtlichen Gründen weicht der gemessene Druckverlust um bis zu 10 % ab. Da im Modell eine Querschnittsverengung im Retentatkanal nicht enthalten ist, wird der Druckverlust geringer berechnet. Ein Vergleich beider Versuche zeigt, dass diese sich nur minimal voneinander unterscheiden und demnach die

zusätzliche Kassette keinen signifikanten Mehrwert besitzt. Dies widerspricht den Ergebnissen von [Dizon-Maspat 2012], laut denen ein Rententatventil keinen signifikanten Effekt hat. Zwar reduziert sich der Effekt vermutlich mit der Anzahl an Filtrationsstufen, aber im Falle einer 4-stufigen SPTFF besitzt dieses Ventil einen signifikanten Einfluss. Es bleibt weiterhin festzuhalten, dass das Modell also auch anwendbar ist für das Modul, dennoch müssen hierfür der Feed-Volumenstrom bei gegebenen Feeddruck bekannt sein.

5.2 Kristallisation

5.3 Charakterisierung des Modells und Sensitivitätsstudie

Analog zur Ultrafiltration wurde zunächst eine Risikoanalyse für die Kristallisation durchgeführt, die in Abbildung 5.16 und Abbildung 5.17 dargestellt sind.

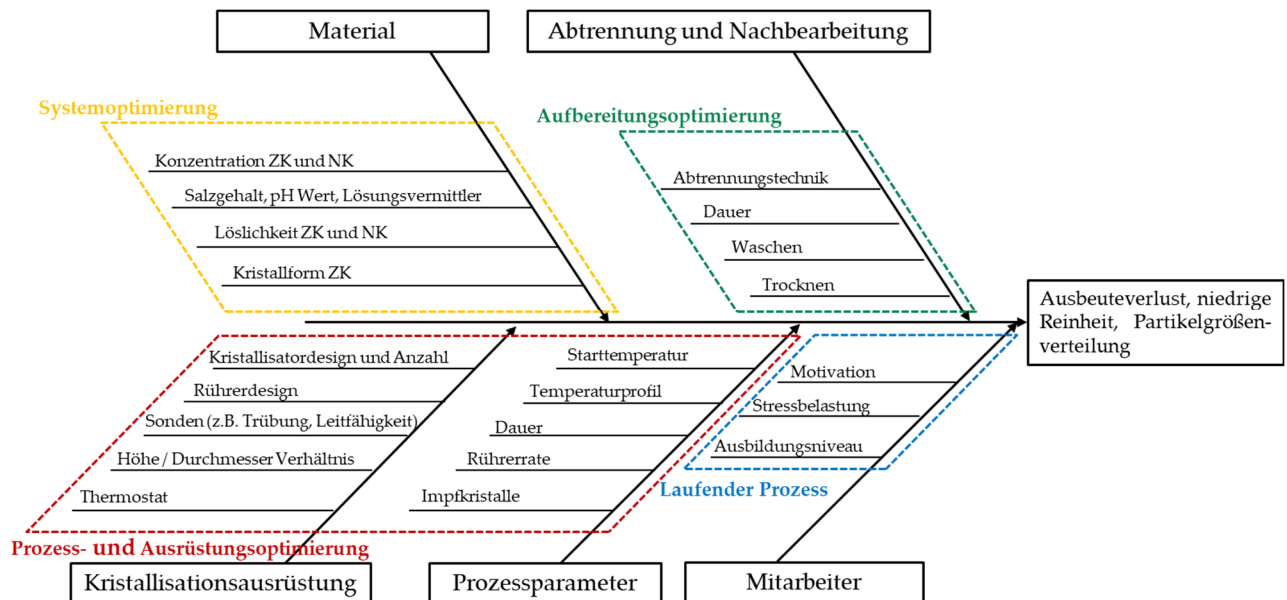


Abbildung 5.16: Ishikawa-Diagramm Kristallisation.

Zusätzlich zu Prozess und Ausrüstung (rot), den Mitarbeitern (blau) und dem Material (gelb) wird für die Kristallisation auch die direkt anschließenden Nachbereitungsschritte als Einflüsse für die Zielgrößen, besonders die PGV, betrachtet. Diverse Eigenschaften, die direkt mit Löslichkeiten oder Konzentrationen zu tun haben, sind ähnlich zur Ultrafiltration, aber ein Großteil weicht hiervon ab. Diese sind insbesondere diverse Einflüsse, welche aus der Prozesssteuerung und der Ausrüstung resultieren. Dies hängt auch damit zusammen, dass absatzweise gearbeitet wird und dementsprechend keine kontinuierliche Förderung und damit einhergehende Prozessgrößen wie Flussgeschwindigkeit betrachtet werden.

Für die in Abbildung 5.17 dargestellte Risikoanalyse wird die Belastung der Mitarbeiter erneut als zentrales Element gewählt. Auch wird der Kristallisationsschritt für einen finalen Schritt in einem Prozess betrachtet.

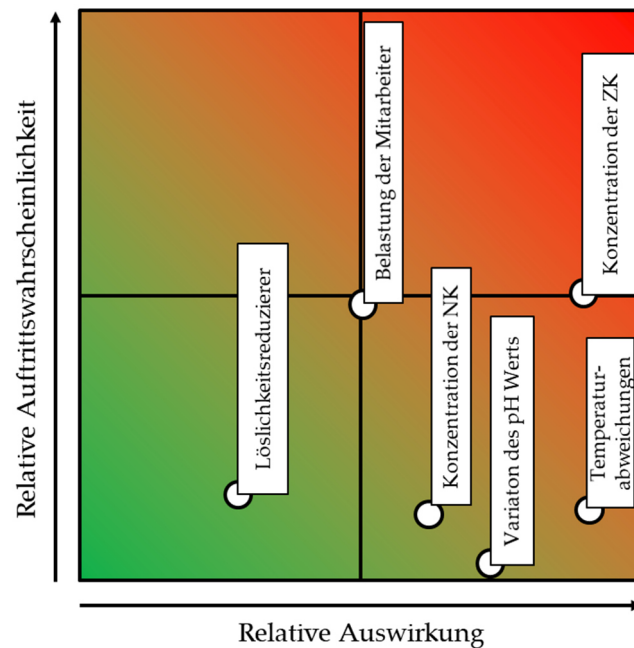


Abbildung 5.17: Risikoanalyse Kristallisation.

Durch die angenommene Prozessposition werden unter anderem die Einflüsse der Nebenkomponten von den vorherigen Schritten aufgefangen bzw. teilweise nivelliert. Daher sind die Risiken für die Kristallisation gering und meist gut steuerbar. Würde der Kristallisationsschritt hingegen zu einem früheren Zeitpunkt im Prozess verwendet werden, wären die Auftretswahrscheinlichkeiten negativer Effekte, bedingt durch die Nebenkomponten, erhöht. Für die Sensitivitätsstudie wurde angenommen, dass die Parameter des Rührkessels (Austauschfläche, Wärmeübergangskoeffizient) sowie die Lösungs- und Kristallparameter (Löslichkeitskoeffizient, Löslichkeitsexponent, Viskosität der Lösung, Dichte der Kristalle) nicht variiert werden. Ansonsten würden zu viele Einflüsse existieren, die die Ergebnisse verfälschen könnten. Der Fokus wurde daher in dieser Studie auf die Modellparameter gelegt, die Auswirkungen auf die Partikelgrößenverteilung besitzen. Die PGV wird für alle Versuche mit den x_{10} , x_{50} , x_{90} Wert abgebildet. Die anderen Zielgrößen sind einmal die $Ausbeute_{TDL}$ und die Raum-Zeit-Ausbeute (RZA). Die $Ausbeute_{TDL}$ ist die erreichte Ausbeute bezogen auf die maximal erreichbare Ausbeute. Bestimmt wird diese über folgende Gleichung (5.3):

$$Ausbeute_{TDL} = \frac{C_{Start,gemessen} - C_{Final,gemessen}}{C_{Start,gemessen} - C_{Final,theoretisch}} \quad 5.3$$

Auf Sensitivität wurden die Parameter überprüft, die in der nachfolgenden

Tabelle 5.8 aufgelisteten sind. Die resultierenden Ergebnisse sind wiederum in der untenstehenden Abbildung 5.18(a-e) über Pareto-Diagramme visualisiert.

Tabelle 5.8: Sensitivitätsstudienparameter für die Kristallisation.

| Variable | Einheit | Bereich | Erklärung |
|--|---------------|-----------------|---|
| Mittlere Partikelgröße der Impfkristalle | μm | 100 - 200 | Siebgrenzen der Partikel. Die Partikelverteilungen werden als Gaußkurven mit einer Abweichung von 25 μm aufgegeben |
| Agglomerationsparameter | (-) | 1000000 – 10000 | Basierend auf den ermittelten Werten für Vanillin von [Lucke 2018, Lucke 2019] wurden die Grenzen als Abschätzung eingefügt. Hierbei ist zu sagen, dass je größer der Parameter, desto geringer ist der auftretende Effekt |
| Bruchparameter | (-) | 100000 – 10000 | Als Obergrenze wurde mit 0,5 ein kugelartiges Partikel gewählt. Die untere Grenze entspricht dem Wert für quaderförmige Nadeln mit einem Höhe-zu-Breite-Verhältnis von 10. |
| Volumetrischer-Formfaktor | (-) | 0,5 – 0,01 | In beiden Fällen wurde der Wert 1 als Basis genommen und um $\pm 25\%$ variiert. |
| Wachstumskoeffizient | (-) | 0,75 – 1,25 | Der obere Wert stellt eine 25%ig gesteigerte Übersättigung dar, der selbst bei Lösungen mit geringem metastabilem Bereich realistisch ist. Für die untere Grenze wurden 10 % angesetzt |
| Wachstumsexponent | (-) | 0,75 - 1,25 | Der untere Wert entspricht ca. der Raumtemperatur am Versuchsstand, der obere Wert stellt eine gemäßigte Temperaturerhöhung dar, bei der keine drastischen Änderungen der Lösung (Dichte, Viskosität, Stabilität) zu erwarten sind. |
| Relative Startübersättigung | (-) | 0,1 - 0,25 | Die untere Grenze ist definiert durch die Inlinemesstechnik des Kristallisators, welche nur bis 0 °C messen kann. Die obere Grenze wurde auf 10 °C festgesetzt. |
| Starttemperatur | °C | 20 - 35 | Mit der Kristallisation als zeitintensive Grundoperation wurde der Einfluss der Zeit zwischen 2 und 4 Stunden betrachtet |
| Endtemperatur | °C | 0 – 10 | Minimale und maximale Drehzahl, bei der die Lösung im Rührkessel uniform gerührt werden kann. |
| Dauer | min | 120 - 240 | |
| Rührgeschwindigkeit | RPM | 100 - 400 | |

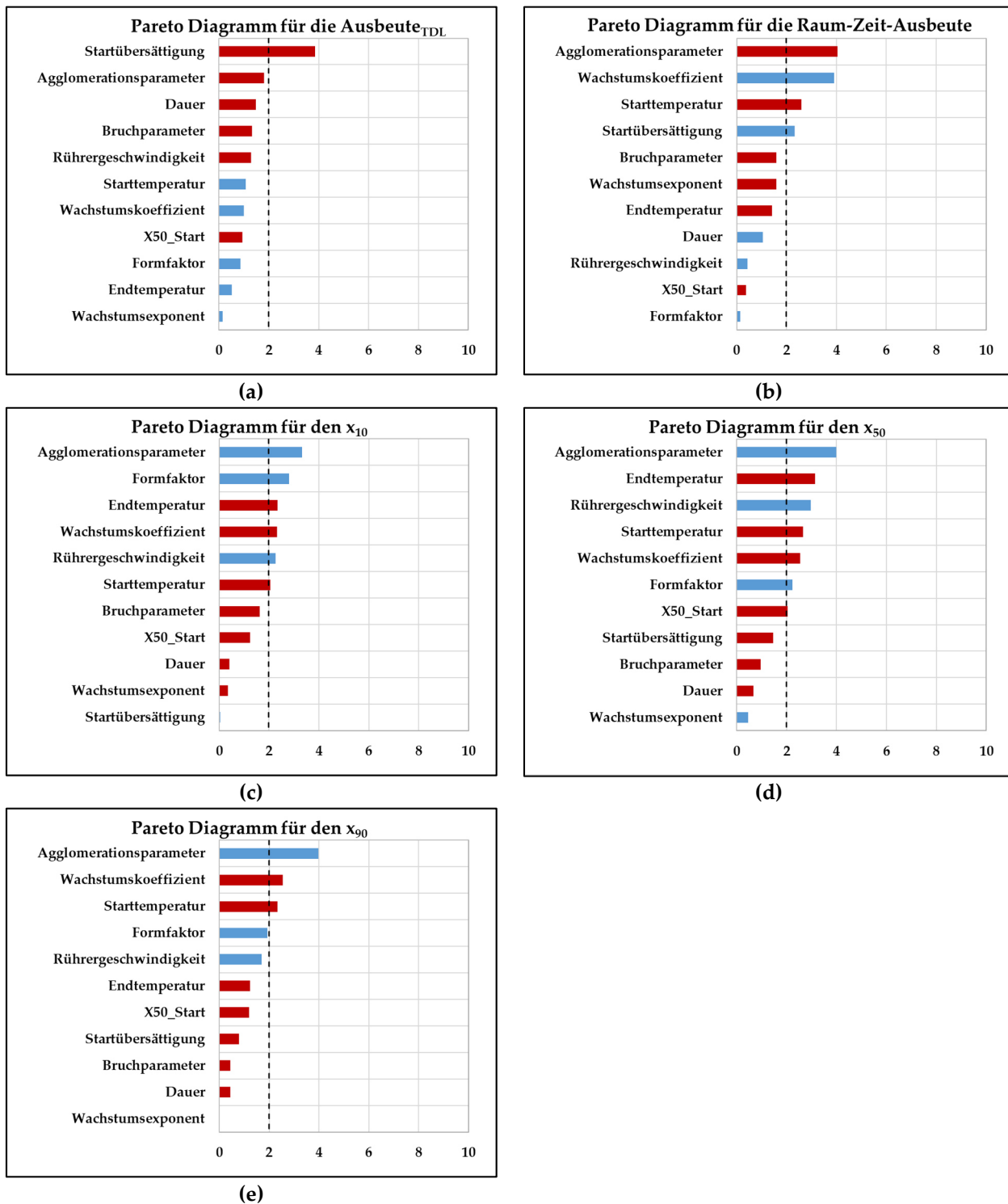


Abbildung 5.18: Sensitivitätsdiagramme für (a) Ausbeute bezogen auf das thermodynamische Limit (b) Raum-Zeit-Ausbeute (c) x_{10} (d) x_{50} (e) x_{90} .

Wie sich aus den obigen Sensitivitätsdiagrammen schließen lässt, ist für beide Ausbeuten-Variablen die Startübersättigung ein maßgeblicher Faktor. Im Falle der RZA kommen hier der Wachstumskoeffizient, der Agglomerationsparameter sowie die Starttemperatur dazu. Der genannte Agglomerationsparameter ist hierbei für alle Kristallgrößenvariablen der sensitivste.

Zusätzlich sind besonders im Falle der mittleren Partikelgröße eine Vielzahl der untersuchten Parameter signifikant. Auch lässt sich konstatieren, dass die Wahl der Temperaturwerte einen signifikanten Einfluss besitzt. Aus den obenstehenden Diagrammen (Abbildung 5.18a-e) lässt sich weiterhin schließen, dass lediglich Bruchparameter und Wachstumsexponent als nicht sensitiv gewertet werden können und diese daher eine geringere Genauigkeit benötigen. Die anderen Parameter hingegen müssen präzise ermittelt werden.

5.4 Prozessauslegung und Parameterbestimmung

Für den Prozess wurde mit der Anlagencharakterisierung begonnen. Hierzu wurde zunächst die Fluidodynamik des Rührkessels überprüft, um sicherzustellen, dass keine lokalen Übersättigungen oder ähnliches zu einem undefinierten Prozess führen könnten. Weiterhin wurde für die verwendete Modellierung angenommen, dass die Eigenschaften der Lösung (Temperatur, Konzentration) in jedem Punkt des Rührkessels gleich sind, was zu überprüfen war. In den nachfolgenden Abbildung 5.19a und b sind die Resultate für einen dieser Versuche gezeigt. In Abbildung 5.19a wird der Konzentrationsverlauf mit dem eines idealen Rührkessels verglichen und in Abbildung 5.19b ist die linearisierte Kurve zur Bestimmung einer potenziellen Kurzschlussströmung($1-\alpha$) und Totvolumen($1-\beta$) dargestellt.

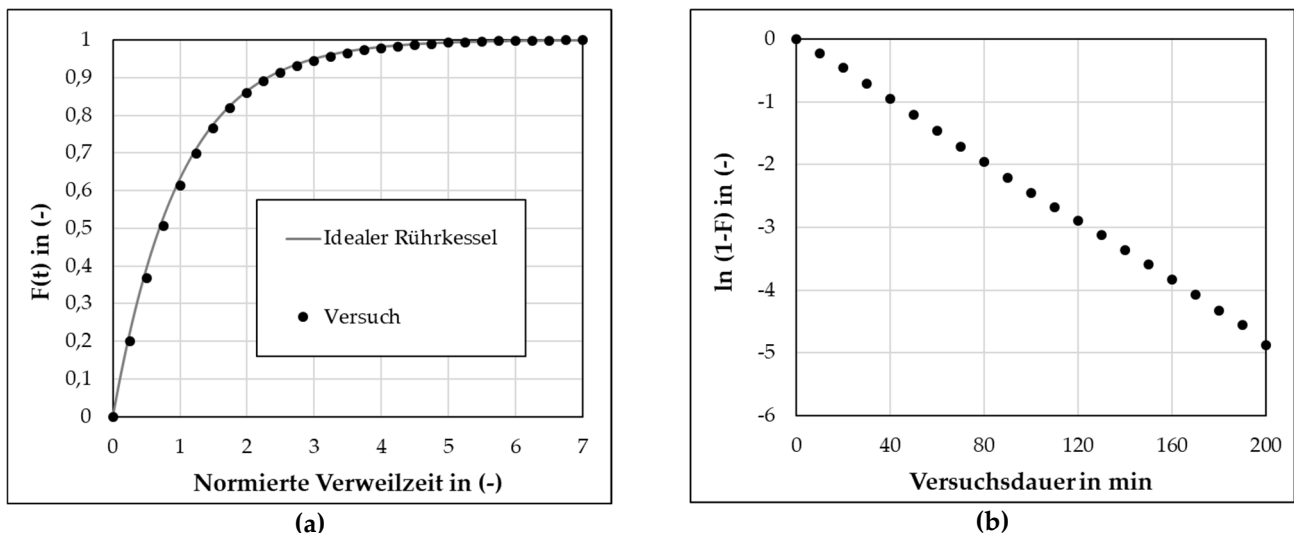


Abbildung 5.19: Auswertung der Fluidodynamik für 100 RPM und 20 mL/min (a) Vergleich des Konzentrationsverlaufs von idealem Rührkessel und Messerwerten (b) linearisierte Kurve.

In der linken Abbildung zeigt sich, dass die Messwerte des Versuchs weitestgehend mit dem des idealen Rührkessels übereinstimmen und keine signifikante Abweichung zu erkennen ist. Die linearisierte Form dieser Funktion kann nun im nächsten Schritt verwendet werden, um die Nichtidealitäten zu bestimmen. Diese lassen sich entsprechend dem nachfolgenden Term bestimmen [Müller-Erlwein 2015]:

$$\ln(1 - F) = \ln(\alpha) - \left(\frac{\alpha}{\beta \cdot \tau}\right) \cdot t \quad 5.4$$

Über die Geradengleichung der linearisierten Sprungkurve lässt sich aus der Steigung der Wert für α ermitteln. Mit dem Wissen über α , der Verweilzeit und dem Versuchszeitpunkt kann der Wert für β aus dem Versatz bestimmt werden. Die Ergebnisse für Kurzschlussströmung und Totvolumen sind in der folgenden Tabelle 5.9 aufgelistet.

Tabelle 5.9: Kurzschlussströmungen und Totvolumina für den Rührkessel

| Volumenstrom (mL/min) | Rührer- geschwindigkeit (RPM) | Kurzschlussströmung (vol.%) | Totvolumen (vol.%) |
|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|-----------------------|
| 20 | 500 | 0,0 | 6,0 |
| 20 | 100 | 0,0 | 0,0 |
| 10 | 300 | 0,0 | 1,0 |
| 1 | 500 | 0,0 | 3,8 |
| 1 | 100 | 0,0 | 3,8 |

Für alle Experimente konnte über diese Methode keine signifikante Kurzschlussströmung detektiert werden. Anders sind die Ergebnisse des Totvolumens. Hierbei zeigte sich, dass in nahezu jedem Experiment ein Totvolumen detektiert werden konnte. Dieses fiel im Falle des maximalen Volumenstroms, gekoppelt mit der höchsten Rührergeschwindigkeit, am größten aus. Der Wert liegt bei 6 % des Gesamtvolumens. Bei gleichem Volumenstrom, aber niedrigerer Rührrate war hingegen kein Totvolumen zu bestimmen. Dadurch, dass keine Kurzschlussströmung aufgetreten und auch das Totvolumen 6 % und geringer ist, wird der Kristaller im weiteren Verlauf als ideal angenommen. Für die anschließenden Versuche im Rührkessel wurde die maximale Rührergeschwindigkeit dennoch auf 400 RPM reduziert, da dies ebenfalls ein geringeres Totvolumen versprach.

Aufbauend auf der Fluidodynamik folgte die Überprüfung der Energiebilanz. Hierzu wurden drei unterschiedlichen Abkühlraten über den Kryostaten vorgegeben und mit dem Temperaturgradienten im Rührkessel verglichen (siehe Tabelle 5.10).

Tabelle 5.10: Vergleich Temperaturgradienten Kryostat und Rührkessel.

| Temperaturgradient Kryostat (°C/min) | Resultierender Temperaturgradient Rührkessel (°C/min) |
|---|---|
| 1 | 0,9 |
| 0,5 | 0,5 |
| 0,1 | 0,1 |

Es zeigt sich, dass der extern aufgegebene Temperaturgradient von 1 °C/min zu keinem parallelen Temperaturprofil im Rührkessel führt, sondern im Rührkessel ein Gradient von 0,9 °C/min messbar sind. Für die niedrigeren Abkühlraten hingegen entstehen parallele Temperaturprofile. Mit den geometrisch gemessenen Werten für die Wärmeaustauschfläche des Rührkessels (3,93 dm²), ergibt sich für den Kessel ein Wärmeaustauschkoefizient von 105 W/(m²·K).

An die kristallisationssystemunabhängige Charakterisierung des Rührkessels schließt die Systemfindung des Kristallisationsschritts an. Hierzu wurde eine Lösungsmittelstudie durchgeführt, deren Ergebnisse in Abbildung 5.20 visualisiert sind.

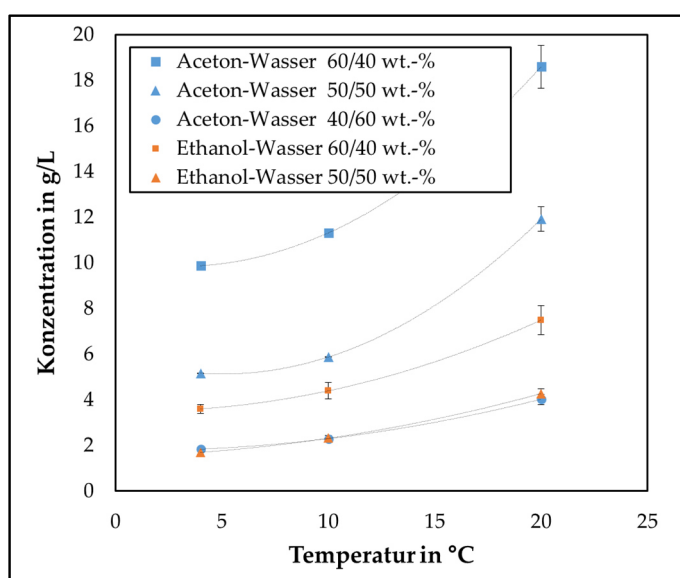


Abbildung 5.20: Lösemittelscreening für Artemisinin. Adaptiert von [Huter 2018].

Zu erkennen ist, dass Aceton-Wasser ein höheres Lösungsvermögen aufweist als Ethanol-Wasser. Ebenfalls wird deutlich, dass durch die Zugabe von Wasser nicht nur ein Versatz der Kurve stattfindet, sondern ebenfalls die Steigung der Löslichkeitskurven reduziert wird.

Für den Prozess wurde die Mischung Ethanol-Wasser 60/40 wt. % gewählt. Diese besitzt, im Vergleich zu beispielsweise Lösungen mit einem geringeren Wasseranteil, eine geringere, besser kontrollierbare Steigung der Löslichkeit. Weiterhin wurde das System der sich ähnlich verhaltenden Mischung von Aceton-Wasser 50/50 wt. % vorgezogen, da diese eine niedrigere Endkonzentration bei 4 °C aufweist und somit bessere Ausbeuten verspricht. Ethanol besitzt zusätzlich den Vorteil, dass es aus toxikologischer Sicht unbedenklicher ist. Aceton hingegen müsste komplett aus den Kristallen entfernt werden, was den Aufwand für nachfolgende Aufarbeitungsschritte erhöhen würde.

Als nächster Schritt muss der metastabile Bereich definiert werden. Hierfür wurde der Scale-Up des Systems in den zuvor charakterisierten Rührkessel durchgeführt. Damit dieser möglichst robust ausfällt, wurden Rührintensität und Temperaturgradient variiert. Die Ergebnisse für die unterschiedlichen Prozessparameter als Einflussgrößen für die Primärkeimbildung sind in der nachfolgenden Tabelle 5.11 aufgelistet.

Tabelle 5.11: Einfluss von Rührgeschwindigkeit und Temperaturgradient auf die Überlöslichkeit.

Adaptiert von [Huter 2018].

| Variation | | Nukleationstemperatur (°C) | |
|---|------------|----------------------------|------|
| Rührergeschwindigkeit (bei 1 °C/min) | 100 RPM | 14,4 | ±0,4 |
| | 200 RPM | 15,8 | ±0,7 |
| | 400 RPM | 16,4 | ±0,2 |
| Temperaturgradient (bei 400 RPM) | 0,1 °C/min | 20,8 | ±1,1 |
| | 0,5 °C/min | 20,6 | ±0,0 |
| | 1,0 °C/min | 16,4 | ±0,2 |

Zunächst wurden die Rührintensität und der damit einhergehende Energieeintrag überprüft. Wie in der Literatur beschrieben (siehe Abschnitt 2.3.4), reduziert sich der Punkt der primären Keimbildung mit gesteigertem Energieeintrag. Analog dazu liegt die Nukleationstemperatur bei maximalem RPM-Wert am höchsten. Der hierauf aufbauend untersuchte Temperaturgradient weist bei der höchsten Steigung einen signifikanten Unterschied von ca. 4 °C zu den geringeren auf. Da für den Prozess und das Modell die Grenzen robust ausfallen sollen, wurden die engsten

Grenzen gewählt. Dementsprechend wurde die nachfolgende Löslichkeits- und Überlöslichkeitskurve bei maximaler Rührergeschwindigkeit (400 RPM) und dem geringsten Temperaturgradienten (0.1 °C) gemessen. In der zusammenfassenden Abbildung 5.21 sind hierfür eine höher aufgelöste Löslichkeitskurve, die mit der isothermen Exzess-Methode bestimmt wurde, sowie die Löslichkeits- und Überlöslichkeitskurve, welche mit der polythermen Methode bestimmt wurden, gezeigt.

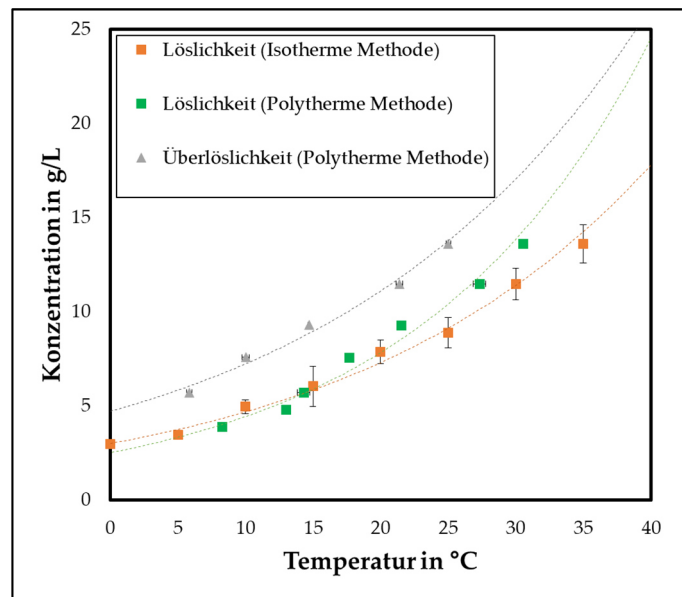


Abbildung 5.21: Löslichkeit und Überlöslichkeit von Artemisinin. Adaptiert von [Huter 2018].

Es ist zu erkennen, dass die beiden Löslichkeitskurven, vor allem mit steigender Temperatur, eine deutliche Abweichung voneinander aufweisen. Die Werte der polythermen und der isothermen Messreihe liegen bis zu 5 °C auseinander. Als Parameter für das Modell ergeben sich die in der nachfolgenden Tabelle 5.11 bestimmten Daten.

Tabelle 5.12: Löslichkeitskoeffizienten für reines Artemisinin.

| | A | B | R ² |
|-----------------------------|------|--------|----------------|
| Löslichkeit (isotherm) | 2,99 | -0,045 | 0,99 |
| Löslichkeit (polytherm) | 2,49 | -0,057 | 0,98 |
| Überlöslichkeit (polytherm) | 4,70 | -0,043 | 0,98 |

Hinsichtlich des Auslegungsprozesses wird zunächst mit den Ergebnissen der polythermen Löslichkeitskurve weiter vorgegangen, da diese inline bestimmt wurden und dementsprechend

manuelle Fehlerquellen reduzierter ausfallen. Aufbauend auf der Bestimmung des metastabilen Bereichs für den Kristallisationsschritt wurde überprüft, wie sich der Energieeintrag und die Prozessdauer auf eine bestehende PGV ausübt. Dieses wurde über die Agglomerations- und Bruchversuche erreicht.

Die unterschiedlichen PGVs von den getätigten Experimenten in Vergleich zu den zugehörigen Aufgabe-PGVs sind in den nachfolgenden Diagrammen 5.21a-f dargestellt.

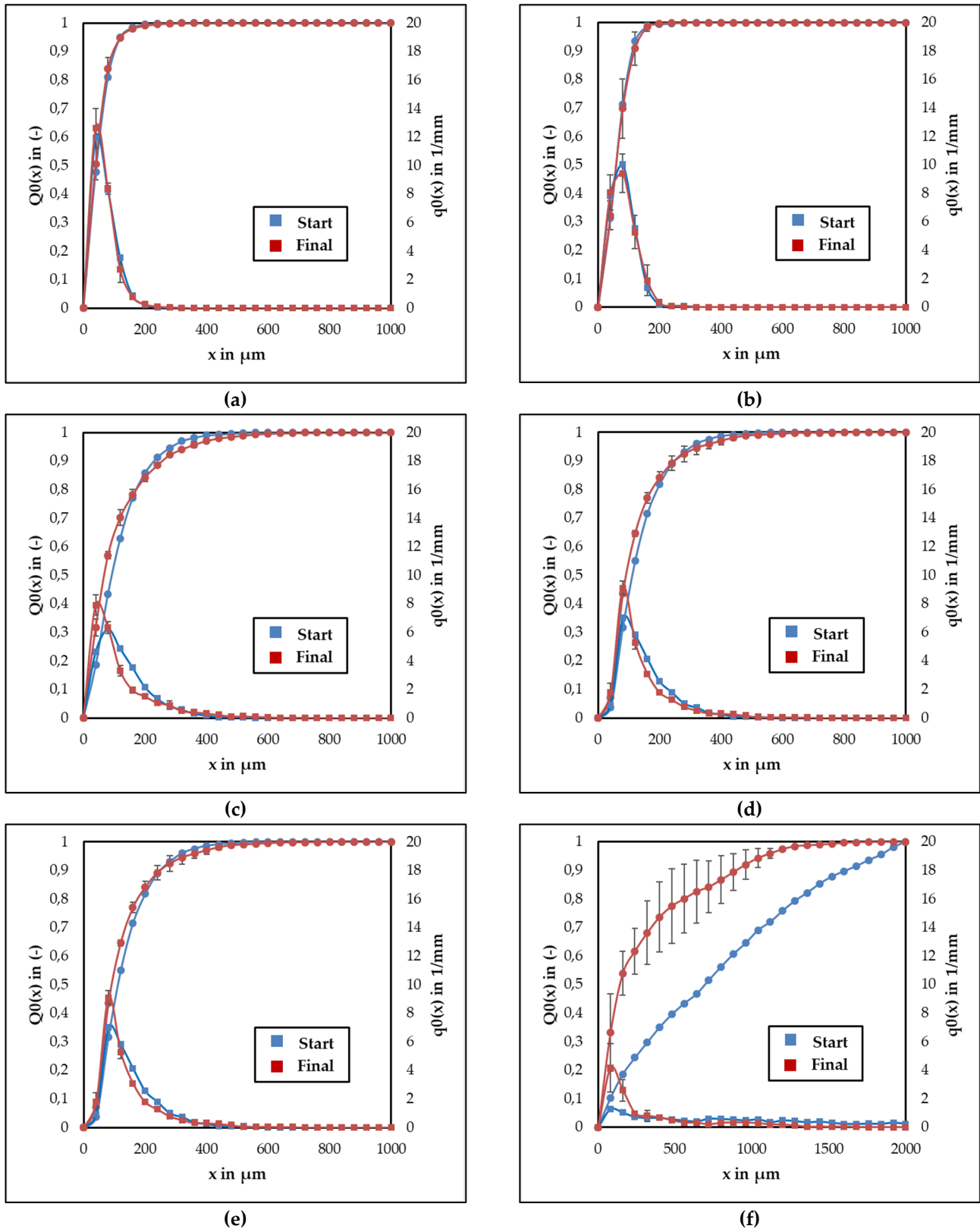


Abbildung 5.22: Partikelgrößenverteilungen der Agglomerations- und Bruchversuche (a) kleine Partikel, 100 RPM (b) kleine Partikel, 400 RPM (c) mittlere Partikel, 100 RPM (d) mittlere Partikel, 400 RPM (e) große Partikel, 100 RPM (f) große Partikel 500 RPM. Adaptiert von [Huter 2018].

Es zeigt sich, dass sich die Partikelgrößenverteilung in keinem der oben visualisierten Fälle zu größeren Kristallen verschiebt. Selbst bei geringen Rührintensitäten verschieben sich die mittleren und großen Fraktionen hin zu kleineren Partikeln. Hierdurch lässt sich vermuten, dass Agglomeration für die betrachteten Artemisininkristalle zu vernachlässigen ist. Da für die kleinste Fraktion nahezu keine Differenz in der PGV festzustellen ist, wurde der Bruchparameter nun für die anderen Fraktionen bestimmt. Die Ergebnisse hierfür sind in Tabelle 5.13 aufgelistet.

Tabelle 5.13: Bruchparameterbestimmung.

| Fraktion | RPM | A_{Br} | R^2 |
|-----------------------|-----|----------|-------|
| 100-150 μm | 100 | 20000 | 0,96 |
| 100-150 μm | 400 | 22000 | 0,99 |
| >150 μm | 100 | 20000 | 0,99 |
| >150 μm | 400 | 3500 | 0,86 |

Alle Versuche, abgesehen von der großen Partikelfraktion bei 400 RPM besitzen einen ähnlichen Wert von ca. 20000 für den Bruchparameter. Damit im Prozess die Kristalle möglichst gut wachsen, sollte dieser bei 100 RPM stattfinden. Aus diesem Grund wurde der Parameter 20000 gewählt.

Als finaler Schritt zur Modellbildung dienen die isothermen Wachstumsversuche. Hierzu wurden bei zwei Temperaturen (10 °C, 20 °C) zwei unterschiedliche relative Übersättigungen (10 %, 25 %) eingestellt, die dann mithilfe von Impfpartikeln (100 -150 μm Fraktion) abgebaut werden sollten. Die resultierenden Konzentrationsverläufe von diesen sind, inklusive der zuvor bestimmten Löslichkeit, in der nachfolgenden Abbildung 5.23 dargestellt.

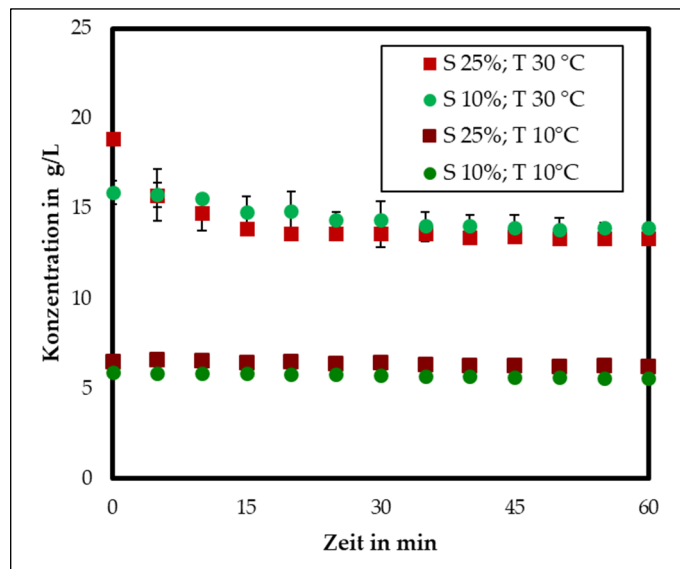


Abbildung 5.23: Isotherme Wachstumsversuche.

Während sich im Falle der hohen Temperatur noch ein Konzentrationsabbau nachweisen lässt, änderte sich die Konzentration bei 10 °C in keinem der Versuche. Zusätzlich ist zu erkennen, dass der Konzentrationsabbau der hohen Übersättigung deutlich schneller erreicht wird. Bereits nach ca. 20 min ist die Löslichkeitskonzentration erreicht. Bei geringerer Übersättigung benötigt der Prozess ca. 40 Minuten.

Dass sich die Konzentration des Artemisinin bei den niedrigen Temperaturen nicht weiter reduziert, deutet darauf hin, dass entweder die Kinetik der Kristallisation auch sehr stark mit der Temperatur abhängt oder dass die angenommene Löslichkeit bei 10 °C nicht korrekt bestimmt wurde.

Um nun die Wachstumsfaktoren für die Wachstumsversuche bei hoher Temperatur adäquat bestimmen zu können, wird zusätzlich die Information über den k_v benötigt. Dieser ergibt sich aus den Bilddaten der Impfpartikeln und den resultierenden PGVs. Der für das Modell verwendete Wert liegt, mit dem Wert von $\phi = 7,34 (\pm 2)$, zu einem Formfaktor (k_v) von 0,019 (+0,017, -0,007) (vgl. Abschnitt 3.3.5).

Anhand des Konzentrationsverlaufs lässt sich für den Versuch mit hoher Startübersättigung (0,25) der Wachstumskoeffizient sowie Wachstumsexponent bestimmen. Dargestellt sind der Konzentrationsverlauf und die Partikelgrößenverteilung in der nachfolgenden Abbildung 5.24a und b.

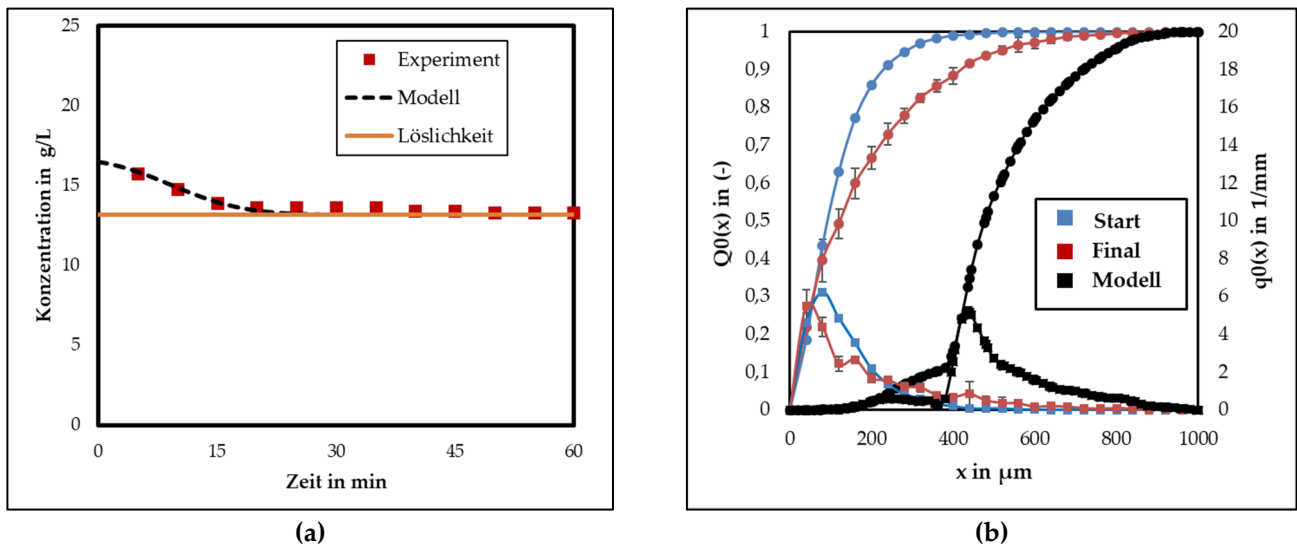


Abbildung 5.24: Wachstumsfaktorbestimmung Kristallisation.

Während der theoretische Verlauf der Konzentration gut getroffen werden kann, wird die Partikelgrößenverteilung deutlich zu groß prädictiert. Diese liegt im Realvergleich zur gemessenen PGV in einem dreifach höheren Bereich. Dies kann mehrere Ursachen besitzen. Einerseits könnte eine Sekundärkeimbildung, die über den reinen Bruch hinausgeht, stattfinden, andererseits könnte der Bruch der Partikel stärker ausfallen, als im vorherigen Experiment bestimmt. Zusätzlich ist es möglich, dass aufgrund der fragilen Kristallstruktur der Artemisininkristalle die Aufbereitung dieser (Ablassen, Filtern, Waschen, Trocknen) zu einer massiven Änderung der PGV führt. Es lässt sich daher feststellen, dass eine Modellbildung mit der verwendeten Ausrüstung und den durchgeführten Versuchen nicht möglich ist.

Um die getätigten Vermutungen bezüglich der differierenden PGV bestätigen zu können, müsste die Messtechnik des Rührkessels erweitert werden. Hierfür wäre ein online bzw. inline Analyseverfahren notwendig. Dieses müsste in der Lage sein die komplexe Kristallstruktur (transparent, nadelförmig) korrekt über den kompletten Größenbereich der Kristalle aufnehmen zu können. Erst mit einer solchen Messtechnik wäre eine sichere Aussage über den Prozess machbar und gleichzeitig eine Überarbeitung des Modells für das betrachtete Stoffsystem sinnvoll.

Da das Ziel für die Kristallisation nicht nur die Prozessmodellierung war, sondern auch die Prozessauslegung für das Stoffsystem, wurde eine Prozessdesignstudie in Form eines vollfaktoriellen DoEs für die Prozessparameter (Starttemperatur, Endtemperatur, Laufzeit und

Übersättigung) durchgeführt. Die Versuche und Resultate sind in der nachfolgenden Tabelle 5.14 zusammengetragen. Die betrachteten Zielgrößen sind, wie in der Sensitivitätsstudie, Ausbeute bezogen auf das thermodynamische Limit (Y_{TDL}), die Raum-Zeit-Ausbeute (RZA) und der maximale Ferretdurchmesser bei 10 %, 50 % und 90 % der Partikelsummenverteilung.

Tabelle 5.14: Prozessdesignstudie für den Kristallisationsschritt. Adaptiert von [Huter 2018].

| S_{Start} (-) | T_{Start} (°C) | T_{Final} (°C) | Dauer (min) | x₁₀ (µm) | | x₅₀ (µm) | | x₉₀ (µm) | | Y_{TDL} (-) | RZA (g/(l·h)) |
|--|---|---|------------------------------|--------------------------------------|-------|--------------------------------------|-------|--------------------------------------|--------|--------------------------------------|--------------------------------|
| 0,18 | 25 | 5 | 180 | 84,3 | ±6,7 | 221,2 | ±33,2 | 477,8 | ±119,7 | 0,93 | 1,17 |
| 0,10 | 30 | 10 | 120 | 90,4 | ±0,1 | 233,1 | ±4,2 | 532,4 | ±122,1 | 0,83 | 2,66 |
| 0,10 | 20 | 10 | 240 | 155,6 | ±15,1 | 558,9 | ±9,5 | 1016,0 | ±6,7 | 0,70 | 1,26 |
| 0,18 | 25 | 5 | 180 | 107,6 | ±2,0 | 313,0 | ±27,1 | 589,3 | ±112,5 | 0,87 | 1,30 |
| 0,18 | 25 | 5 | 180 | 94,2 | ±3,0 | 258,1 | ±21,9 | 499,9 | ±74,7 | 0,91 | 1,22 |
| 0,25 | 30 | 0 | 120 | 91,4 | ±1,9 | 226,2 | ±15,2 | 376,8 | ±21,4 | 0,90 | 1,77 |
| 0,10 | 20 | 10 | 120 | 88,3 | ±4,5 | 279,5 | ±10,6 | 621,9 | 129,2 | 0,65 | 2,62 |
| 0,25 | 30 | 0 | 240 | 85,3 | ±7,5 | 201,6 | ±5,4 | 384,6 | ±102,7 | 0,93 | 0,78 |
| 0,25 | 30 | 10 | 240 | 91,8 | ±7,5 | 207,3 | ±27,9 | 383,3 | ±15,9 | 0,88 | 1,26 |
| 0,10 | 20 | 0 | 240 | 105,4 | ±5,4 | 294,8 | ±45,2 | 596,2 | ±78,5 | 0,86 | 0,77 |
| 0,10 | 30 | 0 | 240 | 100,0 | ±10,5 | 261,5 | ±39,3 | 525,8 | ±130,9 | 0,92 | 0,79 |
| 0,10 | 20 | 0 | 120 | 68,7 | ±3,8 | 161,7 | ±2,0 | 334,5 | ±21,0 | 0,84 | 1,58 |
| 0,10 | 30 | 0 | 120 | 85,6 | ±1,1 | 211,7 | ±14,1 | 393,9 | ±2,7 | 0,88 | 1,79 |
| 0,25 | 30 | 10 | 120 | 88,9 | ±3,6 | 212,8 | ±30,7 | 388,0 | ±10,8 | 0,87 | 2,61 |
| 0,25 | 20 | 10 | 120 | 87,6 | ±4,7 | 308,0 | ±36,3 | 556,6 | ±103,8 | 0,72 | 2,56 |
| 0,25 | 20 | 10 | 240 | 80,4 | ±0,7 | 249,5 | ±47,2 | 438,3 | ±55,3 | 0,87 | 1,12 |
| 0,25 | 20 | 0 | 240 | 78,2 | ±1,1 | 188,5 | ±4,0 | 402,0 | ±11,0 | 0,88 | 0,78 |
| 0,10 | 30 | 10 | 240 | 87,3 | ±5,4 | 224,4 | ±16,1 | 384,9 | ±22,5 | 0,87 | 1,24 |
| 0,25 | 20 | 0 | 120 | 64,1 | ±1,3 | 160,3 | ±5,1 | 343,1 | ±17,0 | 0,83 | 1,69 |

Die Versuche 1, 4 und 5 sind hierbei die Centerpoint-Versuche (CP), deren Konzentrationsverläufe und resultierende Partikelgrößenverteilung in den nachfolgenden Abbildung 5.25a und b dargestellt sind.

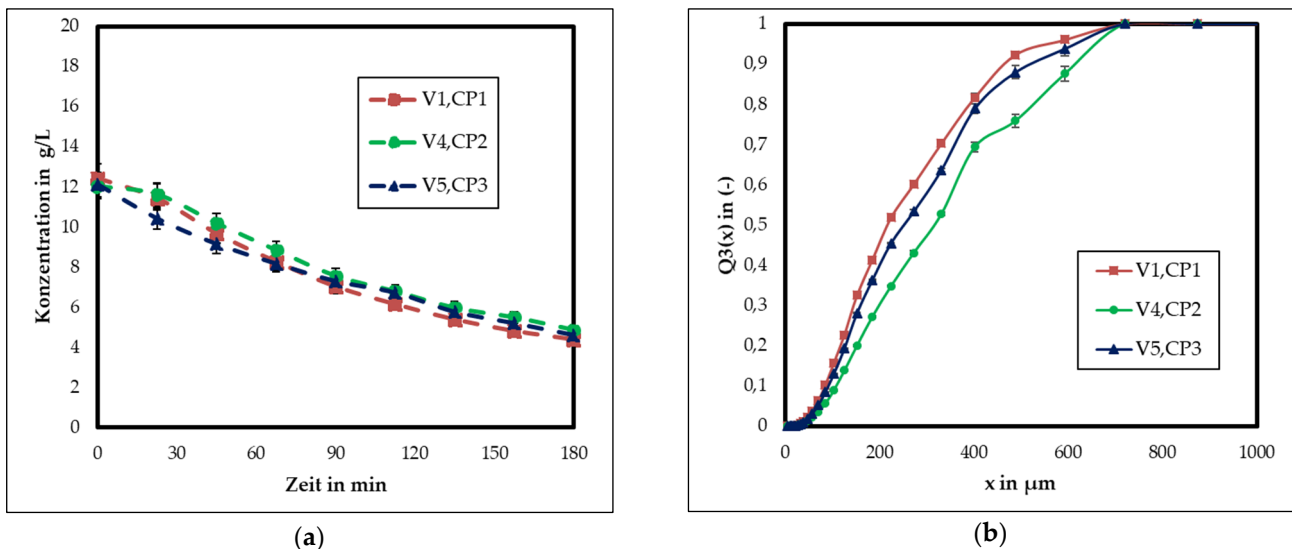


Abbildung 5.25: Ergebnisse der Centerpoint-Versuche (CP) (a) Konzentrationsverläufe über Prozesszeit (b) Partikelgrößenverteilungen der Produktkristalle. Adaptiert von [Huter 2018].

Aus den Abbildungen wird deutlich, dass die Konzentrationsverläufe eine hohe Ähnlichkeit aufweisen, die Partikelgrößenverteilung hingegen, trotz gleichen Vorgehens, Abweichung zeigen. So liegen die x_{50} -Werte im Maximalfall bereits um 100 μm auseinander.

Der obenstehende Versuchsplan wurde zusätzlich hinsichtlich Sensitivitäten und Effekten statistisch ausgewertet. Die Ergebnisse werden im Folgenden für jede der Prozessvariablen (Ausbeute_{TDL}, Raum-Zeit-Ausbeute, x_{10} , x_{50} , x_{90}) gezeigt und diskutiert. Für die Auswertungen wurden die Effekte inklusive einfacher Wechselwirkung berücksichtigt, da diese die höchsten Bestimmtheitsmaße in Verbindung mit niedrigen P-Werten besaßen. Für alle Ausgangsvariablen wurde das gleiche Modell angewendet. Auf Ausschluss einzelner Versuche zur Verbesserung des Modells für eine Prozessvariable wurde verzichtet, um ein allgemeingültiges Modell für alle Ergebnisse zu erhalten.

In der nachfolgenden Abbildung 5.26 sind die Ergebnisse für die Ausbeute, bezogen auf das thermodynamische Limit, dargestellt.

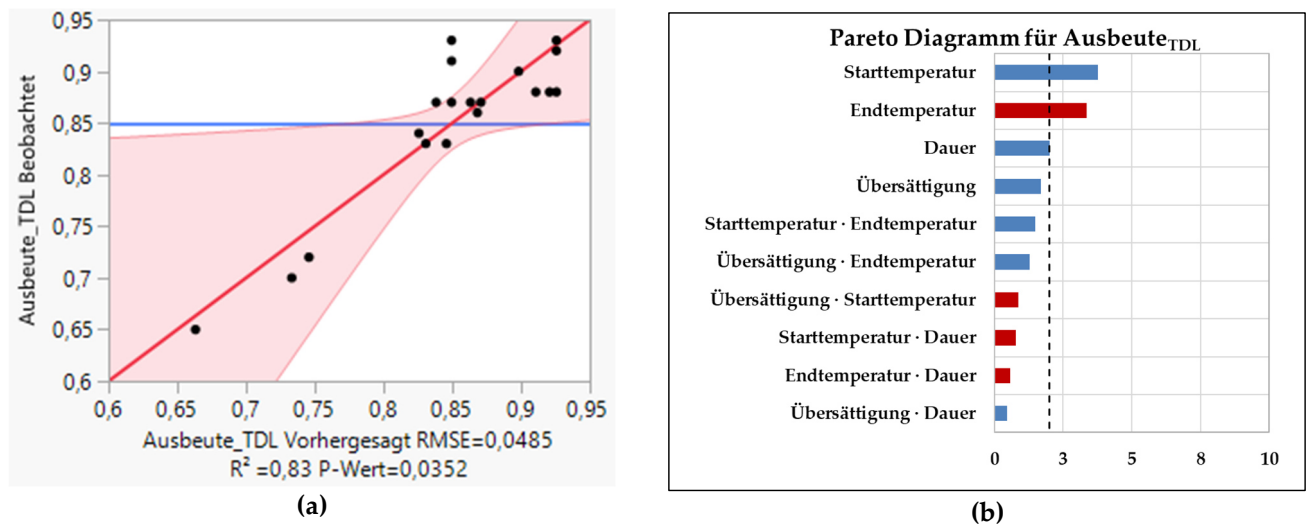


Abbildung 5.26: Auswertung des Prozessdesigns für die Ausbeute_{TDL} (a) Diagramm Vorhergesagt vs. Beobachtet (b) Pareto-Diagramm.

Bezüglich der Genauigkeit des statistischen Modells zeigt sich, dass die getätigten Versuche mit einem R^2 von 0,83 und einem P-Wert von 0,0352 getroffen werden können (vgl. Abbildung 5.27). Auch wird deutlich, dass zwei Versuche besonders stark von den anderen Versuchen abweichen, wodurch das Bestimmtheitsmaß gesenkt wird. Hinsichtlich der Sensitivitäten treten drei Einflüsse über die Signifikanzlinie und sind demnach als sensitiv zu werten. Dies sind die Dauer und Starttemperatur mit einem positivem t-Wert, sowie die Endtemperatur, welche die Ausbeute negativ affiziert. Zur genaueren Aussage sind nun die nachfolgenden Abbildung 5.27a-c gezeigt, welche den Einfluss der einzelnen Versuche auf die Variable zeigen.

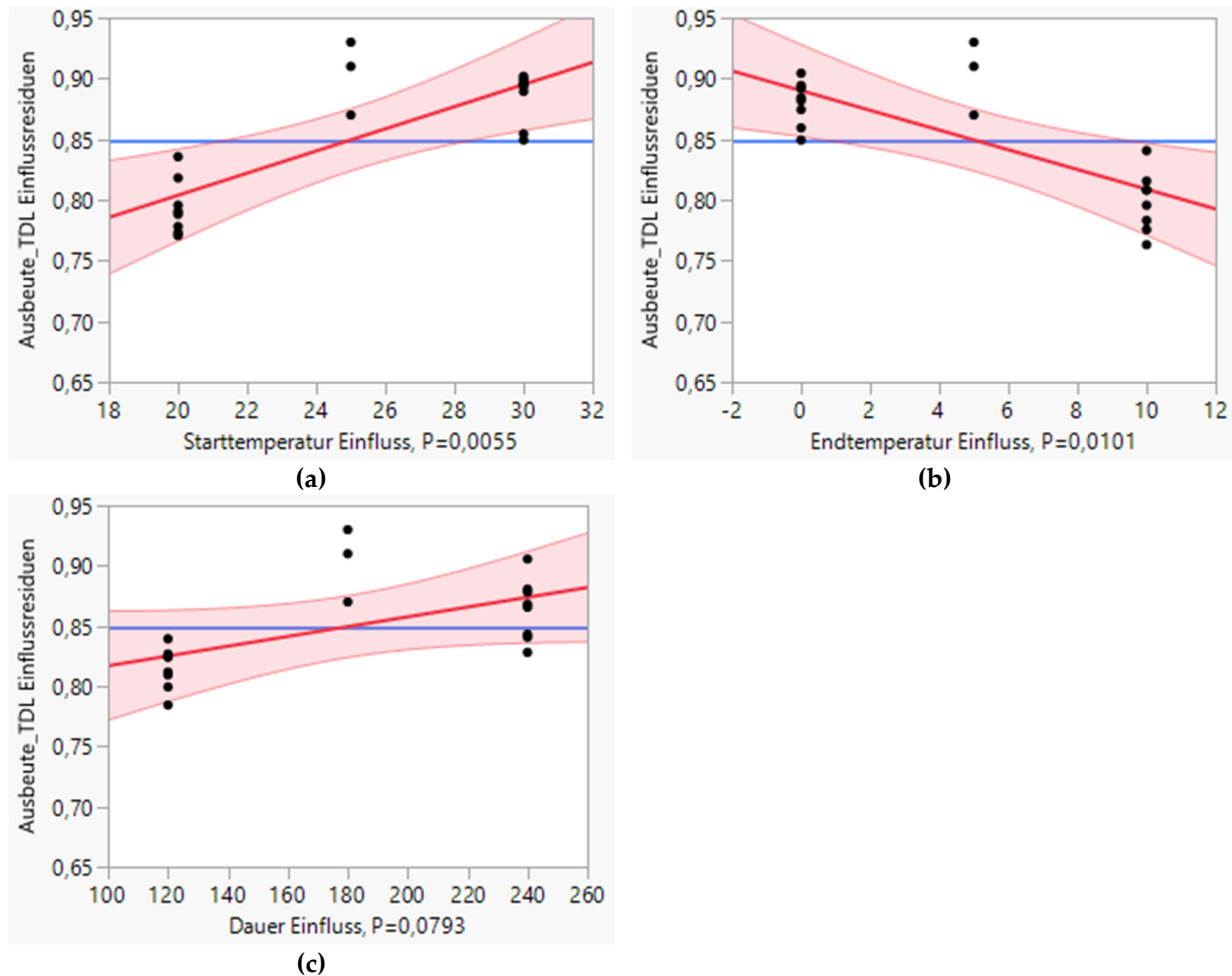


Abbildung 5.27: Einfluss der sensitiven Parameter auf die Ausbeute_{TDL} (a) Starttemperatur (b) Endtemperatur (c) Dauer.

Der Einfluss der Starttemperatur ist für Ausbeute umso größer, je höher die Temperatur zu Beginn des Kristallisationsschritts ist. Gleiches gilt für die Dauer, wie sich aus Abbildung 5.27c erschließen lässt. Die Endtemperatur muss hingegen niedrig sein, um eine optimale Ausbeute zu erzielen. Deutlich wird ebenfalls, dass die Centerpointversuche im Falle aller Variablen dem Verlauf der anderen Versuche etwas widersprechen.

Neben den Einfluss-Diagrammen wurden zusätzlich Konturdiagramme angefertigt, die alle möglichen Varianten der signifikanten Effekte besitzen (siehe Abbildung 5.28). Diese visualisieren die Einflüsse auf den Prozess und erleichtern das Design des Prozesses für die gewünschte Prozessvariable. Je roter der Bereich ist, desto höher ist die Ausbeute.

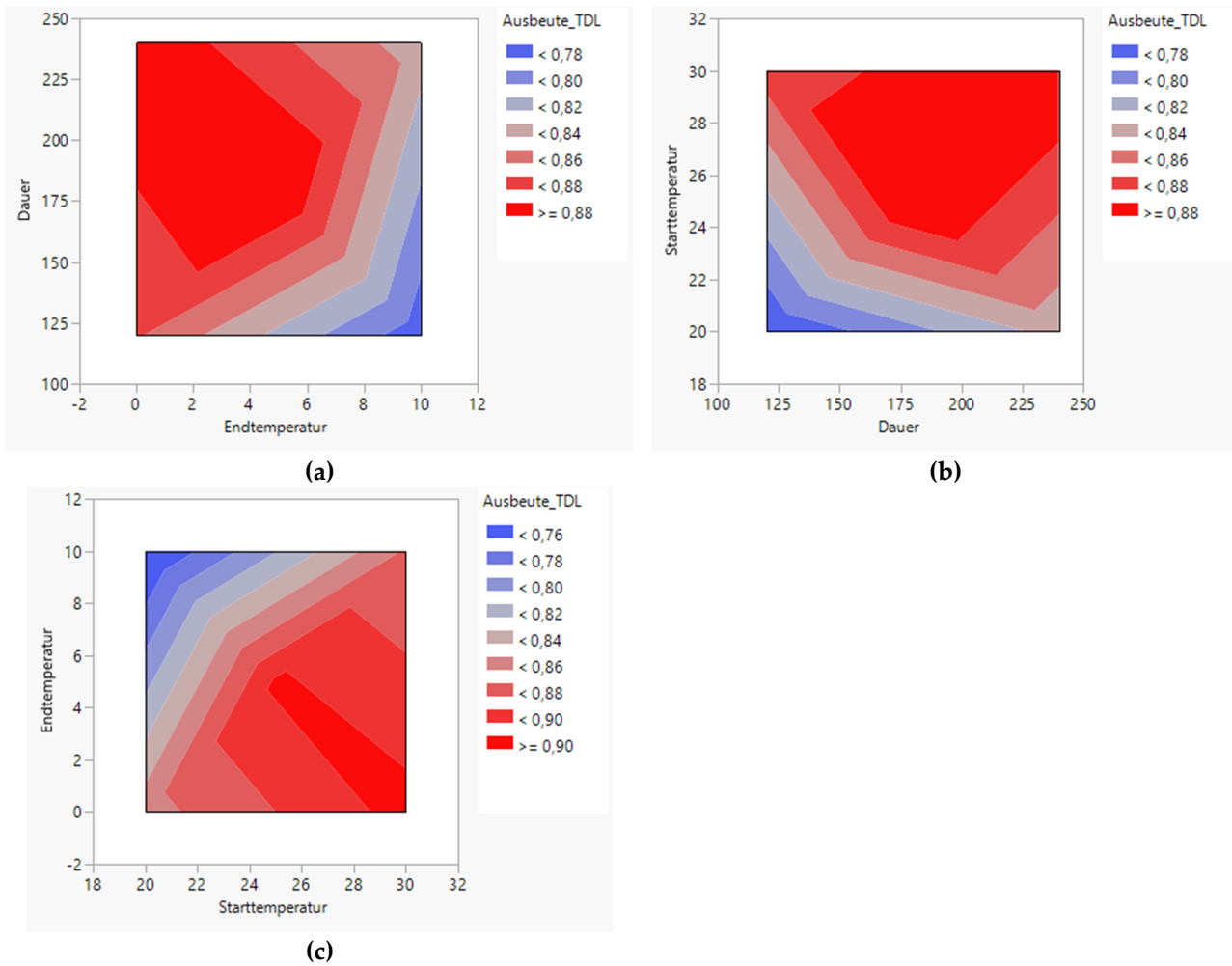


Abbildung 5.28: Konturdiagramme für die $Ausbeute_{TDL}$ (a) Dauer vs. Endtemperatur (b) Starttemperatur vs. Dauer (c) Endtemperatur vs. Starttemperatur.

Unter Betrachtung aller drei Diagramme zeigt sich, dass der Prozess über eine möglichst breite Temperaturspanne ablaufen sollte. Diese hohe Temperaturspanne führt zu einer großen Konzentrationsdifferenz, welche durch den exponentiellen Verlauf der Löslichkeitskurve mit steigender Temperatur ein stärkeres Wachstum besitzt. Weiterhin sollte auch die Prozessdauer möglichst lang gewählt werden. Die lange Prozessdauer hingegen führt wahrscheinlich dazu, dass die Konzentrationsdifferenz zwischen Löslichkeit und Überlöslichkeit abgebaut werden kann. Es wird aber auch deutlich, dass der positive, rote Bereich schon im zentralen Bereich des Diagramms beginnt und nicht erst an den Extrempunkten des Versuchsraumes vorhanden ist.

Die Raum-Zeit-Ausbeute besitzt im Rahmen dieser Auswertung die höchste Modellgüte und die deutlichsten Sensitivitäten, wie aus den nachfolgenden Abbildung 5.29a und b deutlich wird.

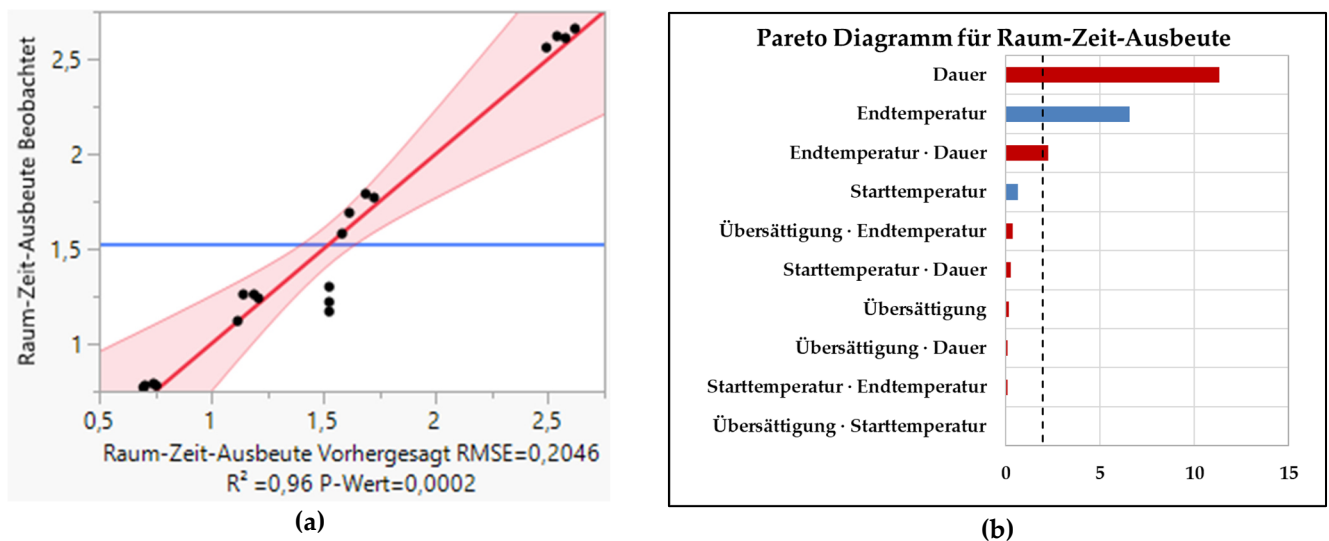


Abbildung 5.29: Auswertung des Prozessdesigns für die Raum-Zeit-Ausbeute

(a) Diagramm Vorhergesagt vs. Beobachtet (b) Pareto-Diagramm.

Wie aus dem Pareto-Diagramm hervorgeht, sind Dauer, Endtemperatur sowie die Wechselwirkung von beiden Effekten signifikant für die RZA. Besonders die Dauer besitzt einen hohen t-Wert und somit eine starke Signifikanz. Im Gegensatz zur Ausbeute_{TDL} ist in diesem Fall mit Endtemperatur x Dauer auch eine einfache Wechselwirkung signifikant (vgl. Abbildung 5.29b). Die Einflüsse der Wechselwirkung aus Endtemperatur und Dauer sowie der anderen signifikanten Prozessgrößen sind in den nachfolgenden Effekt-Diagrammen (Abbildung 5.30a-c) gezeigt. Für das Prozessdesign wurde auch hier ein Konturdiagramm erstellt (siehe Abbildung 5.30d), welches in diesem Fall die Parameter Endtemperatur und Dauer enthält.

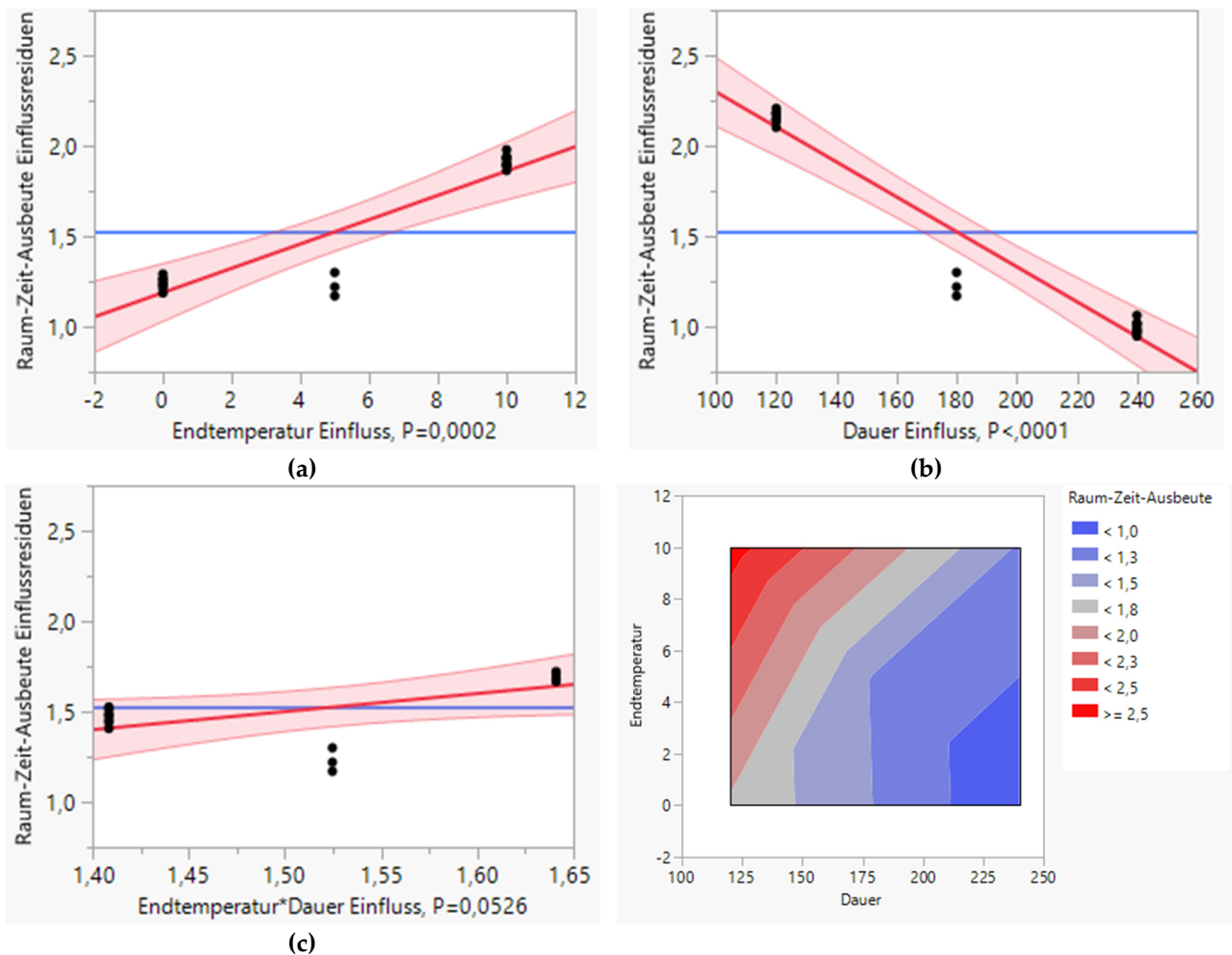


Abbildung 5.30: Einfluss der sensitiven Parameter auf die Raum-Zeit-Ausbeute (a) Endtemperatur (b) Dauer (c) Endtemperatur \times Dauer und (d) Konturdiagramm für die Raum-Zeit-Ausbeute: Dauer vs. Endtemperatur.

Analog zur Ausbeute_{TDL} lässt sich für die Raum-Zeit-Ausbeute konstatieren, dass die Centerpointversuche der Tendenz der restlichen Versuche widersprechen und in dem Modell als Ausreißer anzunehmen sind. Für den Prozess zeigt sich, dass bei niedriger Endtemperatur die RZA signifikant geringer ist (vgl. Abbildung 5.30a). Auch zeigt sich, dass sich eine hohe Prozessdauer negativ auf die Raum-Zeit-Ausbeute auswirkt. Aus dem Konturdiagramm wird deutlich, dass ein hoher Temperaturgradient auch niedrigere Endtemperaturen mit einer RZA von 2 ermöglicht. Der höchste Wert ($< 2,5$) wird in dieser Versuchsreihe bei 10°C erreicht. Die beste RZA wird nur im absoluten Randbereich des Versuchsraumes erzielt.

Im Folgenden werden die PGV-Variablen genauer betrachtet. Für x_{10} lassen sich aus den vorhandenen Daten die in Abbildung 5.31 ermitteln.

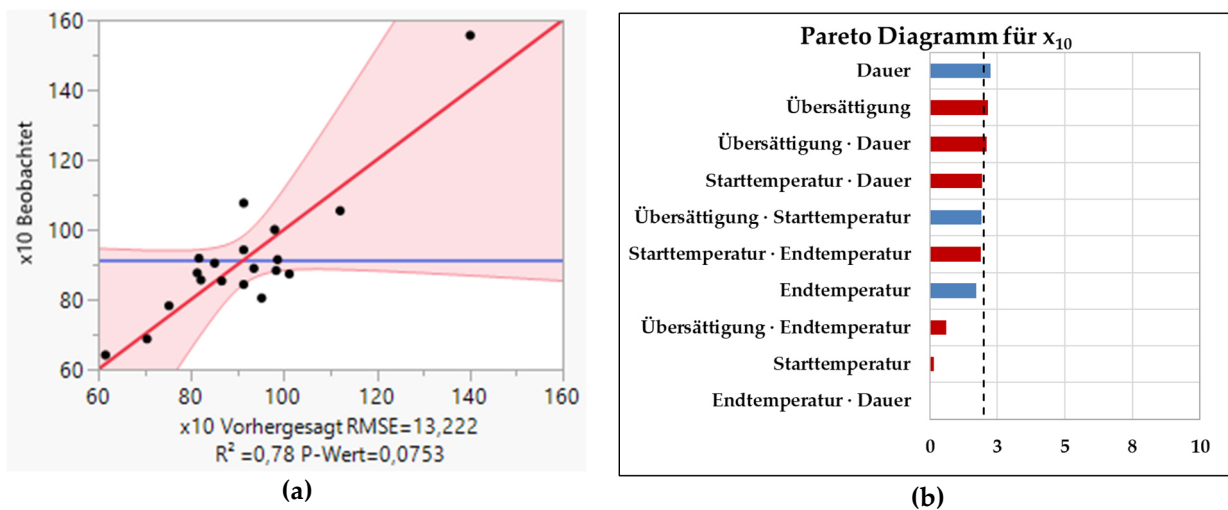


Abbildung 5.31: Auswertung des Prozessdesigns für x_{10} (a) Diagramm Vorhergesagt vs. Beobachtet (b) Pareto-Diagramm.

Mit einem R^2 von 0,78 und einem P-Wert von 0,075 besitzt das statistische Modell geringere Werte als in den vorangegangenen Prozessvariablen, die auf der Konzentrationsänderung beruhen. Ebenfalls sind einige Ausreißer festzustellen, die wiederum geringer aus dem Konfidenzintervall heraustreten als in den vorherigen Auswertungen. Es lassen sich drei signifikante Effekte detektieren (siehe Abbildung 5.31b). Hierbei handelt es sich um die Dauer, die Übersättigung sowie deren Wechselwirkung. Der Übertritt über die Signifikanzlinie erfolgt aber nur geringfügig und es gibt auch diverse Einflüsse, die nur knapp darunterliegen.

Die Effekt-Diagramme sowie das Konturdiagramm aus Dauer und Übersättigung gibt nun weitere Informationen für den Prozess (siehe Abbildung 5.32).

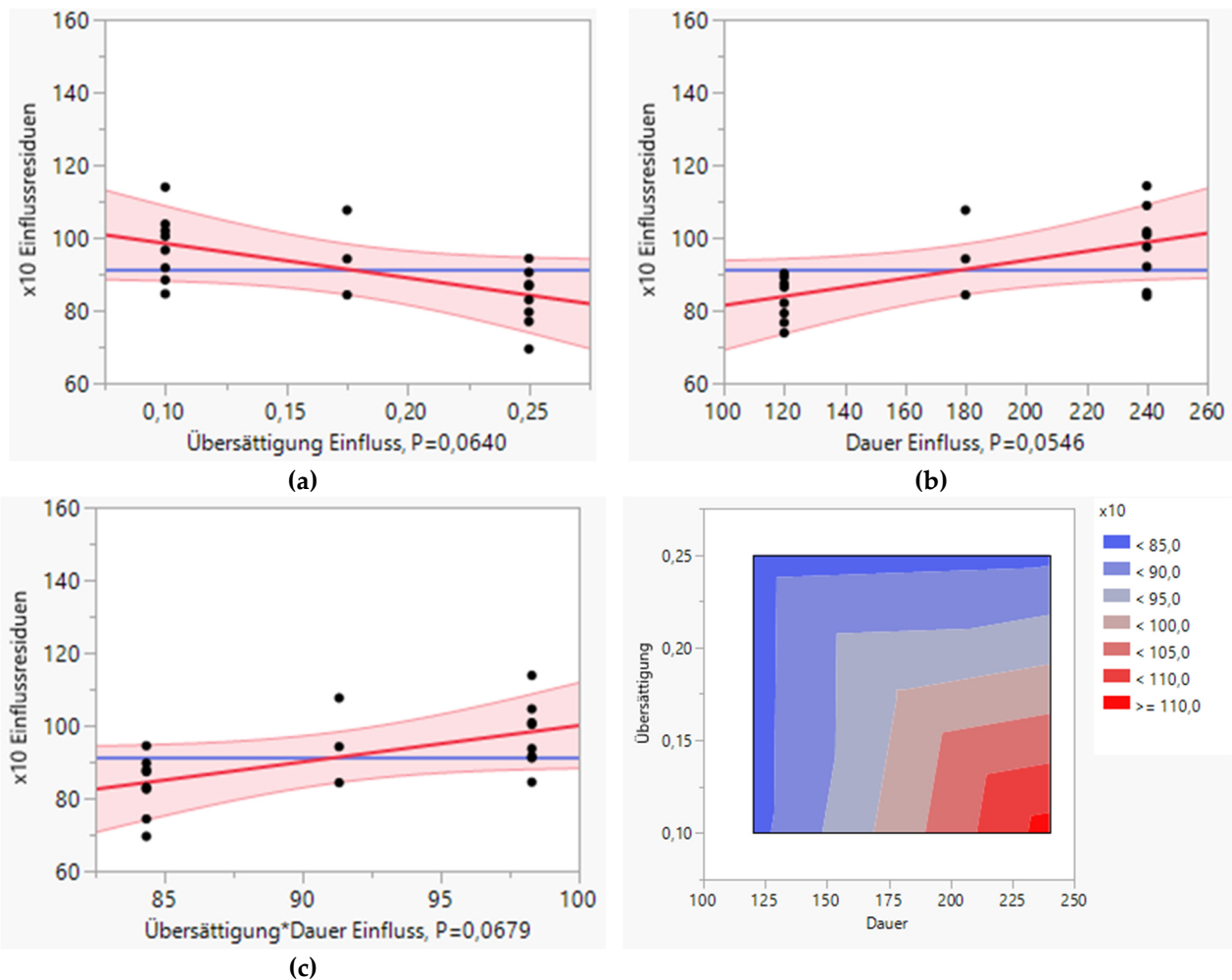


Abbildung 5.32: Einfluss der sensitiven Parameter auf die für x_{10} (a) Endtemperatur (b) Dauer (c) Dauer \times Starttemperatur und (d) Konturdiagramm für x_{10} : Dauer vs. Übersättigung.

Aus den Einfluss- sowie Konturdiagrammen lässt sich schließen, dass ein langsamer Prozess bei niedriger Übersättigung zu den größten Partikeln führt. Durch ein solches Vorgehen kann der x_{10} Wert von kleiner als $85 \mu\text{m}$ auf über $110 \mu\text{m}$ vergrößert werden und damit beispielsweise das Verstopfen eines Filters reduziert werden.

Für den mittleren Partikeldurchmesser konnte im Rahmen dieser Versuchsreihe die in Abbildung 5.33 dargestellten Ergebnisse erzielt werden. Das R^2 ist mit einem Wert von 0,82 für die betrachteten Partikelgrößenwerte am höchsten. Auch der P-Wert ist mit 0,0367 der niedrigste der verschiedenen x -Werte. Hierbei zeigt sich, dass sowohl die Einzeleffekte Endtemperatur und Übersättigung als auch die Wechselwirkungen Starttemperatur \times Endtemperatur sowie Übersättigung \times Dauer sensitiv sind.

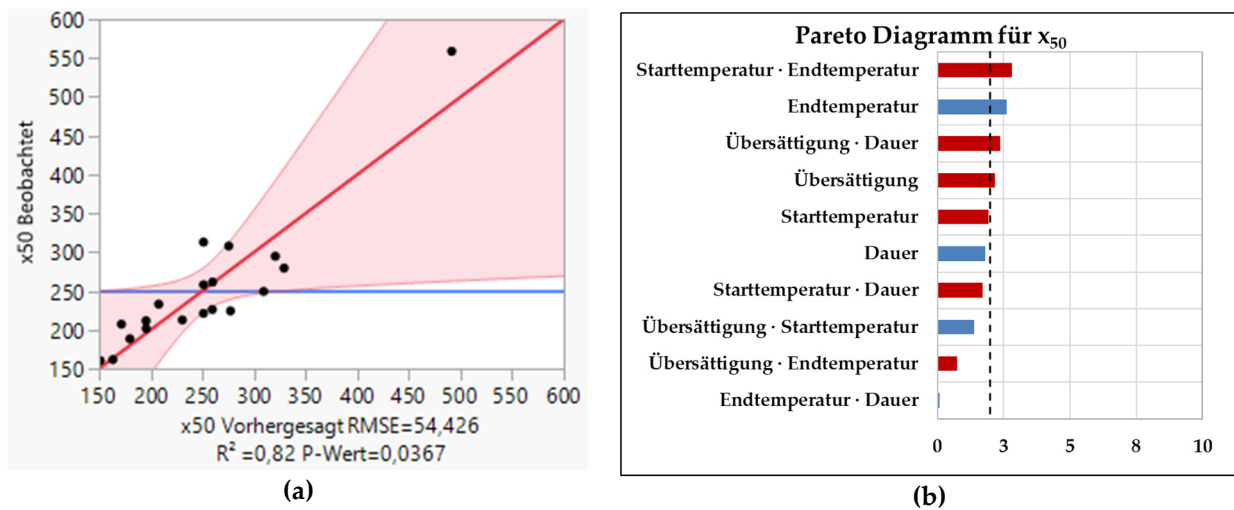


Abbildung 5.33: Auswertung des Prozessdesigns für x_{50} (a) Diagramm Vorhergesagt vs. Beobachtet (b) Pareto Diagramm.

Die Effekte der sensitiven Parameter sind in der nachfolgenden Abbildung 5.34 aufgeführt.

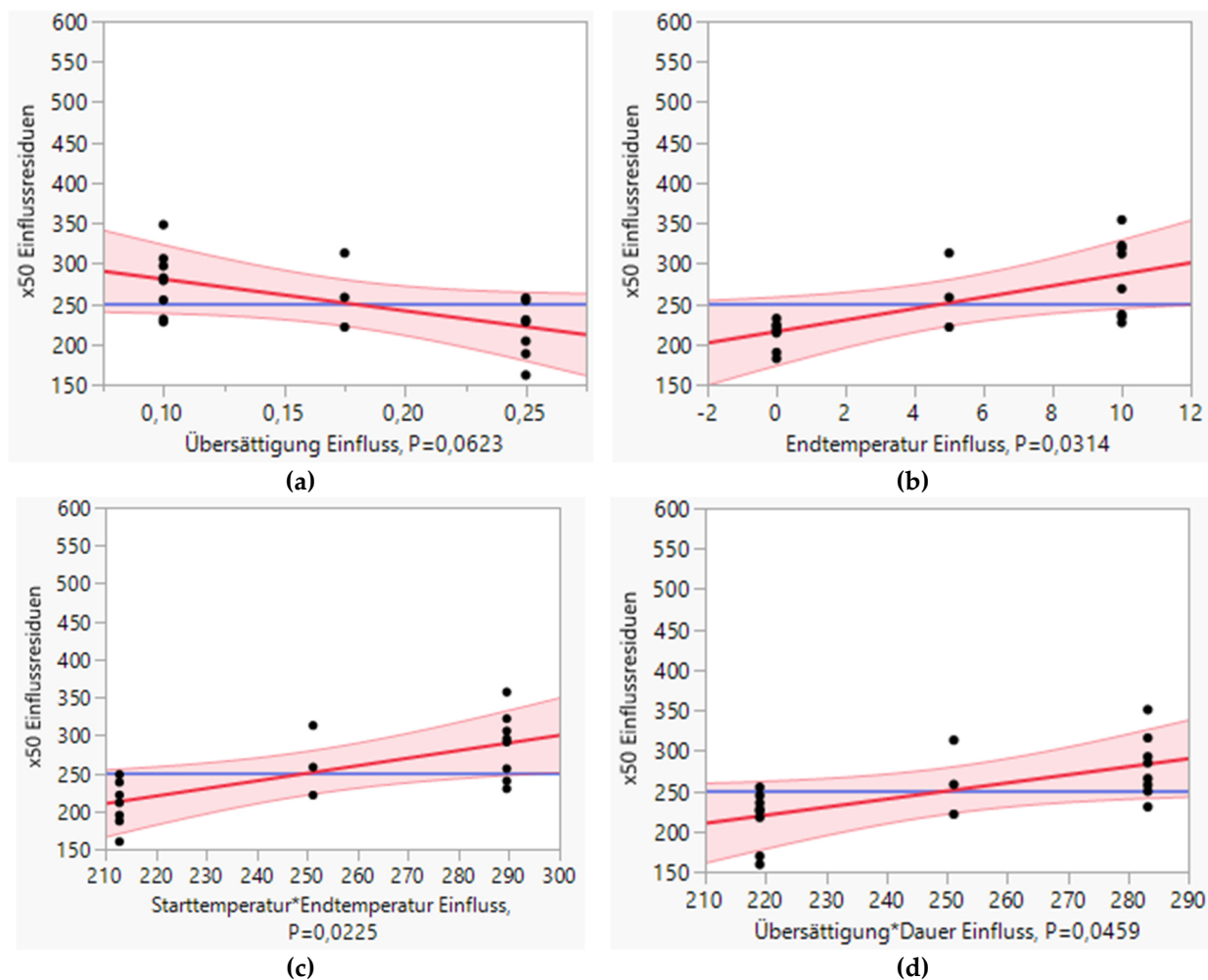
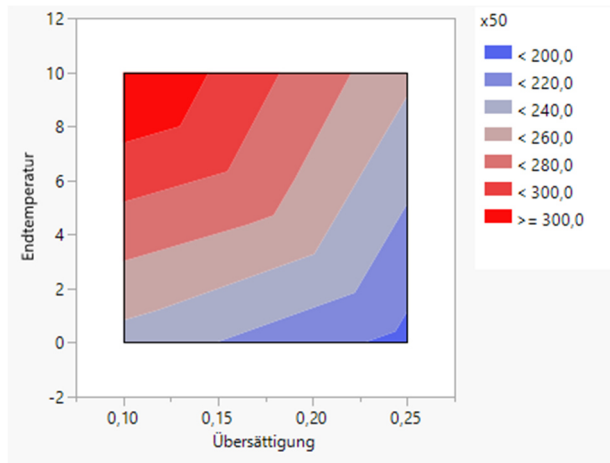
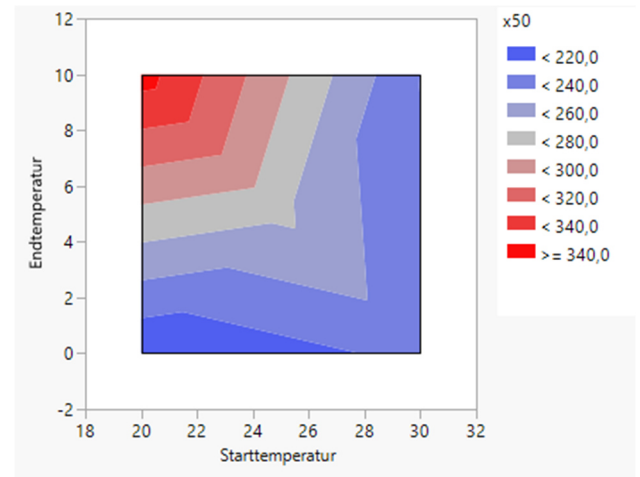


Abbildung 5.34: Einfluss der sensitiven Parameter auf x_{50} (a) Übersättigung (b) Endtemperatur (c) Starttemperatur x Endtemperatur (d) Übersättigung x Dauer.

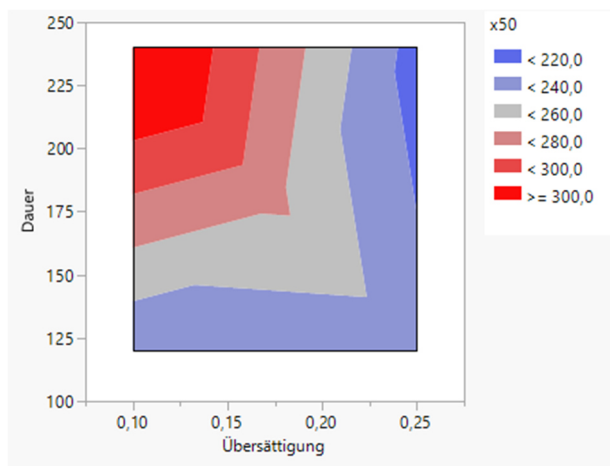
Auch für den x_{50} folgen, entgegen der Ausbeutevariablen, die Ergebnisse den Trends des x_{10} . Der x_{50} -Wert sinkt mit steigender Übersättigung, weiterhin steigt dieser mit niedriger Endtemperatur. Zur genaueren Aussage der Wechselwirkungen und der einzelnen Effekte folgen auch für die mittlere Partikelgröße die möglichen Konturdiagramme der signifikanten Prozessvariablen (siehe Abbildung 5.35).



(a)



(b)



(c)

Abbildung 5.35: Konturdiagramme für x_{50} (a) Endtemperatur vs. Übersättigung

(b) Endtemperatur vs. Starttemperatur (c) Dauer vs. Übersättigung.

Es zeigt sich, dass zur Vergrößerung der Kristalle die Endtemperatur möglichst hoch, die Übersättigung sowie die Starttemperatur möglichst niedrig und die Dauer möglichst lang gewählt werden sollte. Zusammenfassend sollte also ein geringer Temperaturgradient angelegt

werden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen, die sich für den x_{10} -Wert feststellen lassen. Ebenfalls zeigen alle Konturdiagramme, dass das optimale Gebiet erst im oberen Viertel des Diagramms erreicht wird.

Final wurde noch der x_{90} -Wert betrachtet, also die Kristallgröße, bei der 90 % der Partikelsumme erreicht werden. Die Einflüsse der jeweiligen Prozessparameter sind in Abbildung 5.36 aufgezeigt.

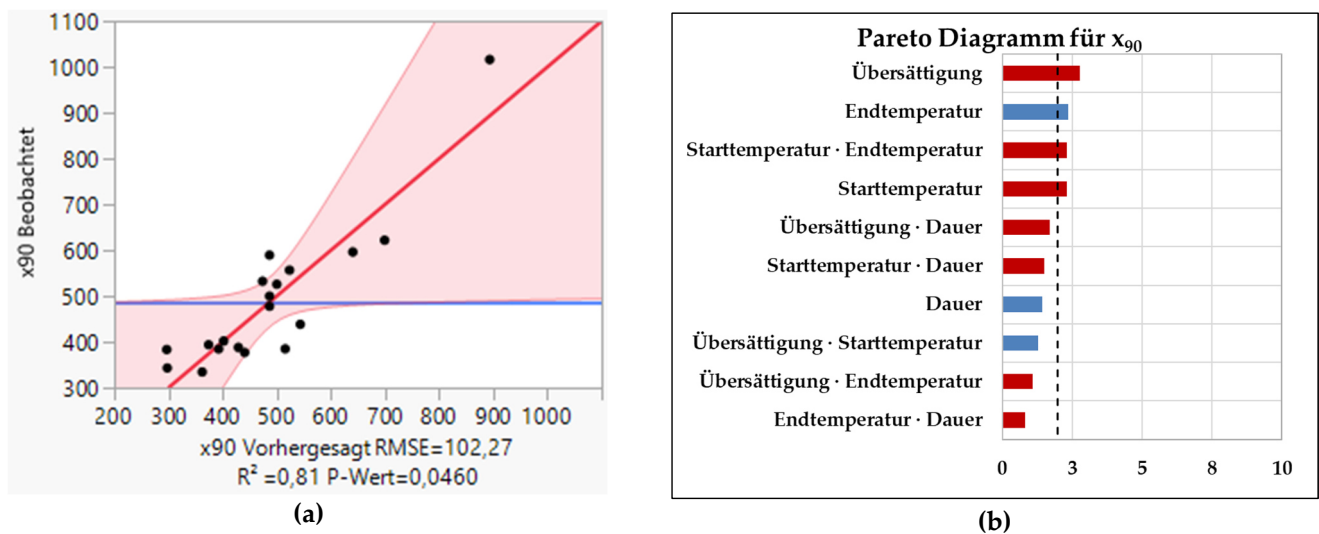


Abbildung 5.36: Auswertung des Prozessdesigns für x_{90} (a) Diagramm Vorhergesagt vs. Beobachtet (b) Pareto-Diagramm.

Der Plot *Beobachtet vs. Vorhergesagt* weist vier Ausreißer auf und besitzt im Vergleich zum x_{50} Wert ein geringeres Bestimmtheitsmaß und einen höheren P-Wert. Sensitiv für diese Prozessvariable sind wiederum die Endtemperatur, Starttemperatur, Übersättigung sowie die Wechselwirkung aus beiden Temperaturen. Die Effekt-Diagramme sind in Abbildung 5.37a-d gezeigt.

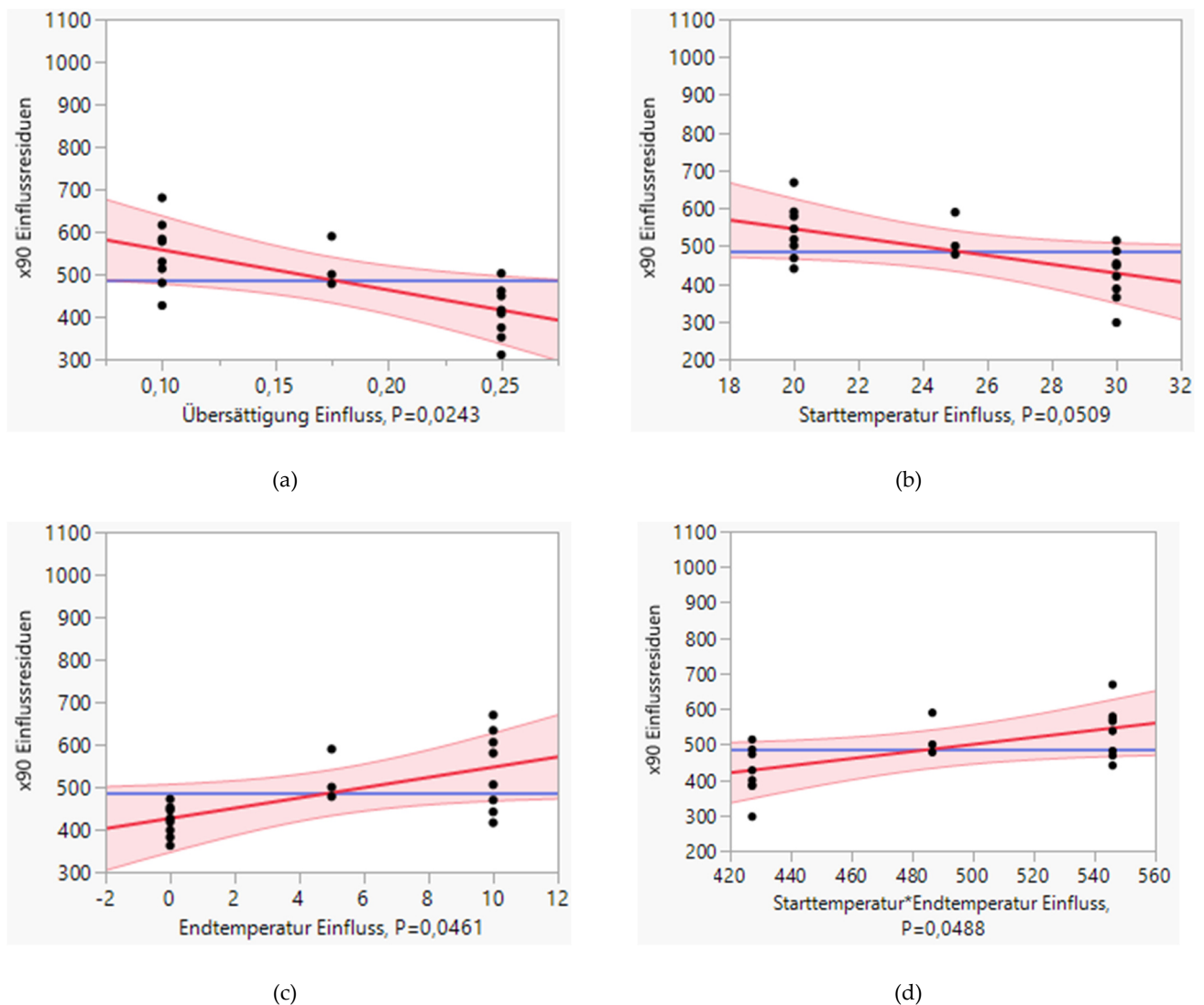


Abbildung 5.37: Einfluss der sensitiven Parameter auf x_{90} (a) Übersättigung (b) Starttemperatur (c) Endtemperatur (d) Starttemperatur vs. Endtemperatur.

Auch für den x_{90} Wert lassen sich analoge Trends wie für die vorherigen Ferrettdurchmesser feststellen. Eine große Temperaturspanne sowie Übersättigung, also eine große Partikelmenge, wirkt sich negativ auf die Kristallgröße aus. Dies wird durch die Konturdiagramme (siehe Abbildung 5.38) visualisiert.

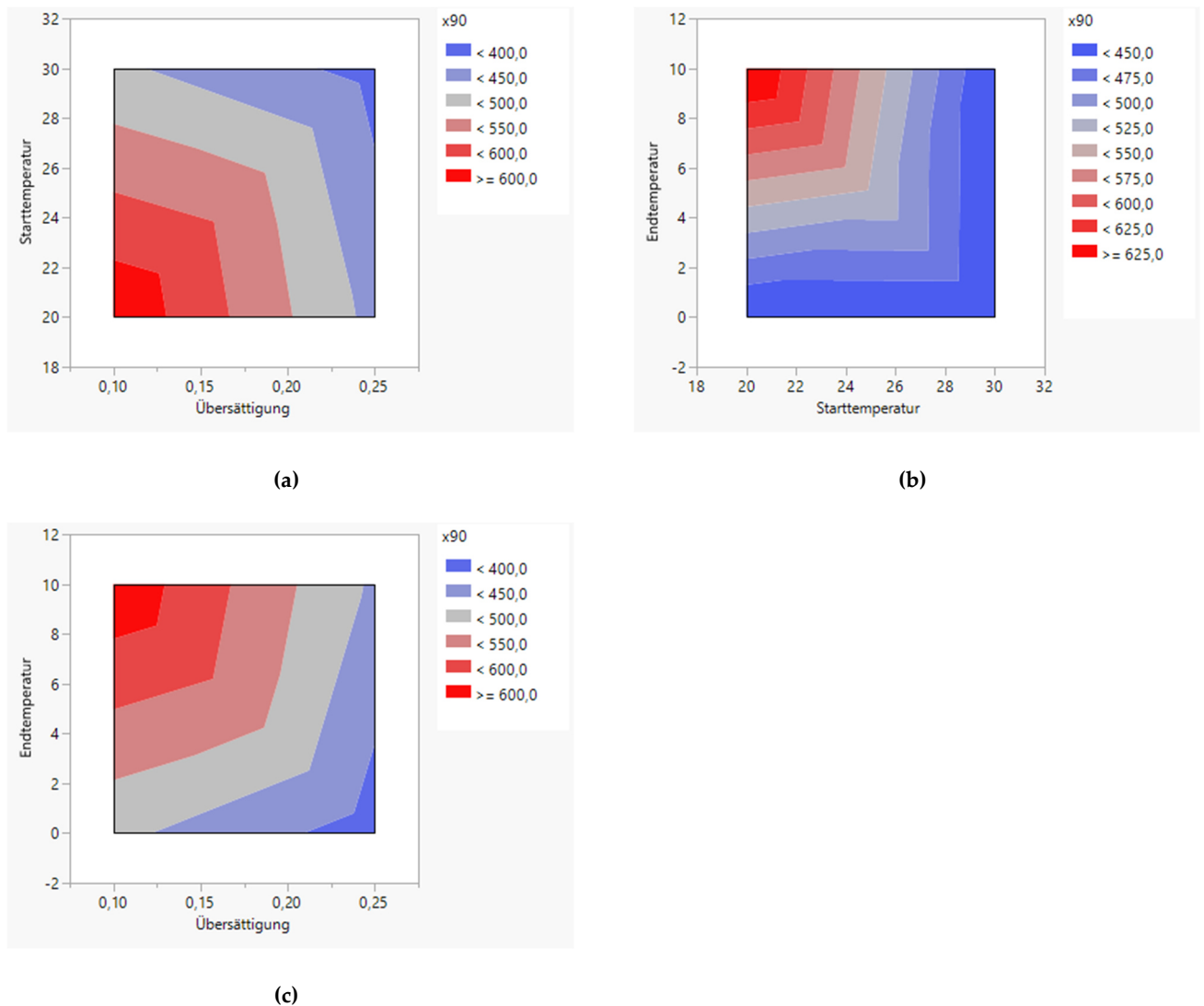


Abbildung 5.38: Konturdiagramme für die x_{90} (a) Starttemperatur vs. Übersättigung (b) Starttemperatur vs. Endtemperatur (c) Endtemperatur vs. Übersättigung.

Wie beispielsweise das Diagramm *Starttemperatur vs. Endtemperatur* veranschaulicht, ist durch eine Variation der Temperaturdifferenz eine Änderung der Partikelgröße von über $175 \mu\text{m}$ möglich. Zusätzlich zeigt das Diagramm, dass die höchsten Partikelgrößen von $600 \mu\text{m}$ erst im absoluten Randbereich des Diagramms erzielt werden. Analog zu den anderen x -Werten ist auch hier die maximale Partikelgröße bei niedrigen Starttemperaturen, hohen Endtemperaturen und niedrigen Übersättigungen erreichbar (siehe Abbildung 5.38a). Aus den Diagrammen, die eine Übersättigung enthalten, wird wiederum deutlich, dass schon eine Übersättigung im mittleren Bereich zu großen Kristallen führen kann.

Werden alle Prozessvariablen betrachtet, wird deutlich, dass es nicht die eine optimale Prozessführung für alle Parameter gibt. Während konzentrationsabhängige Prozessvariablen ($Ausbeute_{TDL}$ und RZA) von hohen Übersättigungen und großen Temperaturunterschieden profitieren, führt dies bei den Kristallen zu einer massiven Reduktion der Partikelgröße. Hierdurch kann zwar die Trocknung der Kristalle einfacher ausfallen, die Filtrationsschritte hingegen werden stark negativ beeinflusst. Da sich die Partikelgrößenvariablen analog verhalten, führt das Anwachsen der kleinen Partikel auch zum Wachstum der großen Partikel, wodurch wiederum die Trocknungseigenschaften verschlechtert werden. Für die Auslegung des Kristallisationsschritts müssten nun die Prozessparameter gewichtet und entsprechend eingestellt werden.

Aus den Ergebnissen des Prozessdesigns sowie der Wachstumsversuche lässt sich vermuten, dass bei einer relativen Übersättigung von 0,25 bereits eine starke sekundäre Keimbildung auftritt. Dies wäre eine Erklärung, wieso sich die PGV in Richtung kleinerer Partikel verschiebt. Die sekundäre Keimbildung wurde in der Modellentwicklung nicht berücksichtigt, sondern nur das Zerbrechen von bestehenden Partikeln betrachtet. Hierdurch würde sich erklären, weswegen die PGV nicht mit dem verwendeten Modell abzubilden ist. Zusätzlich ist die Messmethodik der Kristalle äußerst fehleranfällig. Dadurch, dass in dieser Studie lediglich aufbereitete Kristalle (nach Filtration, Waschen und Trocknung) betrachtet wurden, kann es sein, dass sich die PGV erst durch das Nachbehandeln änderte. Durch die nadelförmige Struktur sind die Kristalle sensitiv hinsichtlich Brechen und Abrieb. Auch die Transparenz der Nadeln, könnte dazu führen, dass diese falsch detektiert werden. Für eine bessere Aussage muss eine nichtinvasive online Messmethodik in den Rührkessel eingebaut werden. Hierfür wäre ein bildgebendes Verfahren notwendig, welches auch in der Lage ist transparente, nicht kugelförmige Kristalle zu messen. Auch eine Abschätzung der mittleren Partikelgröße wäre nicht ausreichend, da es sich nicht zwingend um eine monomodale PGV handelt. Mit einer solchen Methodik könnten sowohl die Verteilung der Partikel genauer abgebildet als auch eine potenzielle sekundäre Nukleation überprüft werden. Mit diesen Informationen könnte ein funktionierendes Prozessmodell entwickelt werden.

5.4.1 Prozessintegration

Für den betrachteten Artemisininprozess (vergleiche Abbildung 2.12) wurde, ausgehend von der SLE, zusätzlich die Prozessintegrationsstudie durchgeführt. Hierzu wurde aus allen Zwischenprodukten (SLE (geklärt), LLE#1, LLE#2 und Chromatographie-Fraktion) ein Kristallisationsschritt überprüft. Mit einer Abkühlung auf $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ konnten sowohl für den vorhergesehenen Punkt nach der Chromatographie als auch dem zweiten Teilschritt der Flüssig-Flüssig-Extraktion eine selektive Kristallisation realisiert werden (vgl. Abbildung 5.39). Für die Schritte davor ließen sich keine Kristalle durch das Abkühlen erzeugen. Die Kristalle der erfolgreichen Versuche wurden in der Folge aufgelöst und auf ihre Reinheit überprüft.

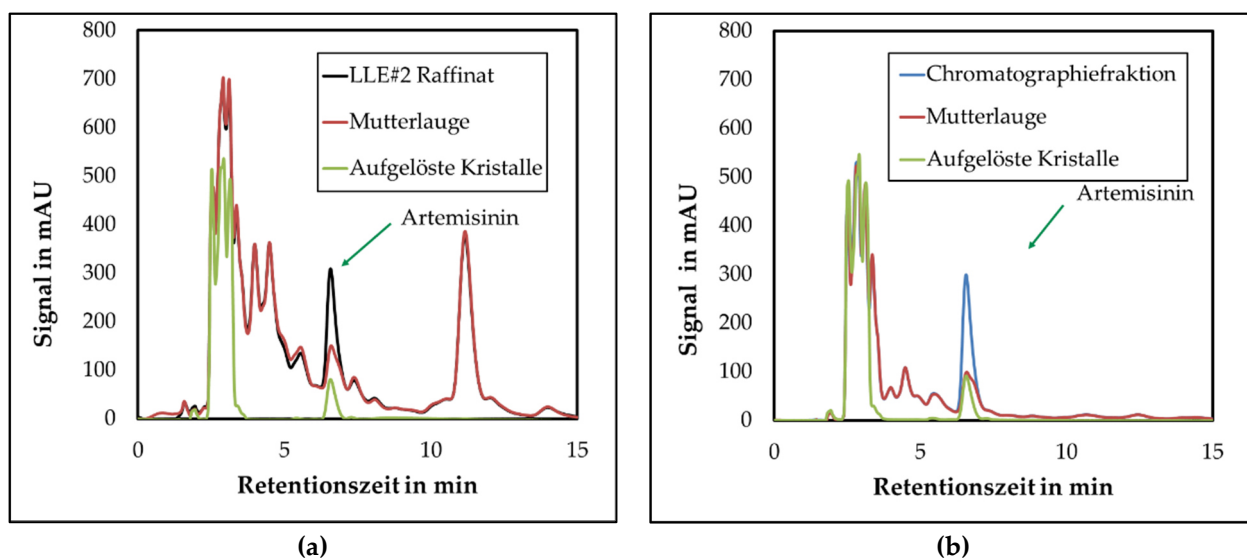


Abbildung 5.39: Chromatogramme der aufgelösten Kristalle, Mutterlauge und des Feed-Materials für (a) LLE-Raffinat (b) Chromatographie-Fraktion. Adaptiert von [Huter 2018].

Beide Chromatogramme zeigen, abgesehen der lösungsmittelspezifischen Peaks (geringer als 5 min), keine Verunreinigungen bzw. signifikanten Signalausläge. Diese Ergebnisse werden durch die in Abbildung 5.40 gezeigte HNMR-Analyse untermauert.

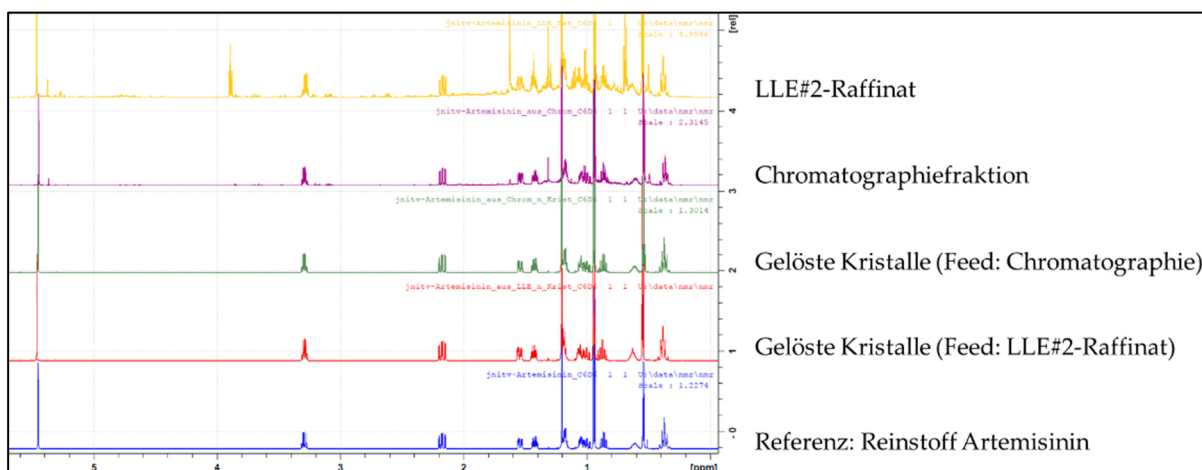


Abbildung 5.40: HNMR-Analyse diverser Lösungen aus dem System. Adaptiert von [Huter 2018].

Der Vergleich der verschiedenen Varianten mit der kommerziell erworbenen Referenzsubstanz zeigt erneut, dass die Kristalle aus dem LLE#2-Raffinat eine höhere Reinheit besitzen als die Chromatographiefraktion. Auch lässt sich kaum ein Unterschied zum Reinstoff bzw. den Kristallen aus der Chromatographiefraktion feststellen. Der Prozess kann somit zu dem in Abbildung 5.41 reduzierten Prozess verkürzt werden.

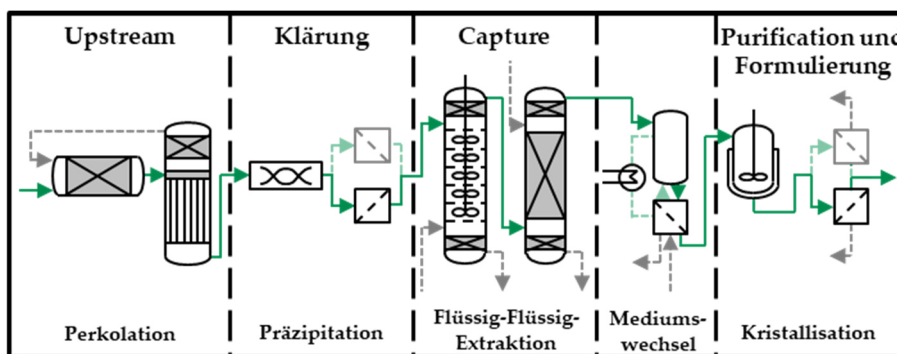


Abbildung 5.41: Reduzierter Artemisininprozess. Adaptiert von [Huter 2018].

Um einen Vergleich zwischen der Kristallisation am Ende des Prozesses und der integrierten Kristallisation durchzuführen, wurde zusätzlich die Löslichkeit und Überlöslichkeit mittels polythermer Methode bestimmt. In Abbildung 5.42 sind die resultierenden Kurven inklusive derer des Reinstoffs aufgetragen.

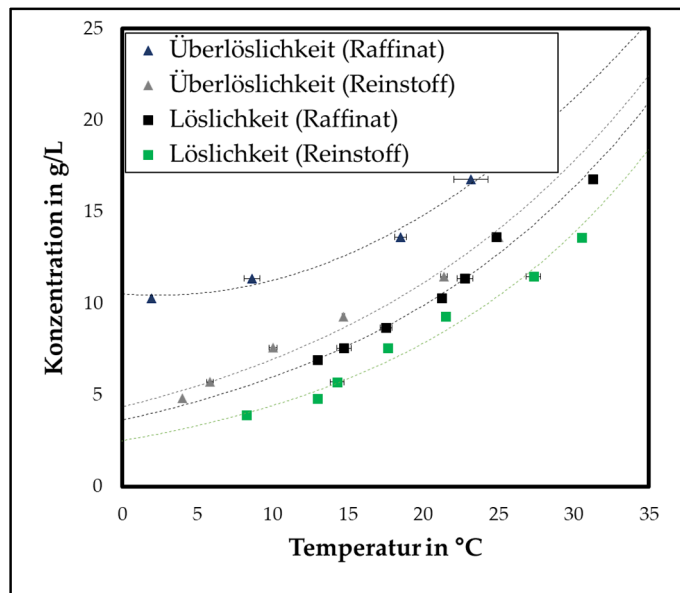


Abbildung 5.42: Löslichkeits- und Überlöslichkeitskurve für beide Kristallisationsschritte, ermittelt mit polythermer Methode.

Das Diagramm verdeutlicht, dass durch die enthaltenen NebenkompONENTEN des Systems sowohl im Falle der Löslichkeit als auch der Überlöslichkeit ein signifikanter Versatz zu erkennen ist. Da dieser für die Überlöslichkeit extremer ausfällt und auch die Steigung der Überlöslichkeitskurve sich stark von den anderen Kurven unterscheidet, ist auch ein maßgeblicher Einfluss auf die Kinetik zu vermuten. Somit müsste für den Fall der Integration abgewogen werden, inwieweit die kinetischen Einflüsse einen Effekt auf die Effizienz des Gesamtprozesses besitzen würden. Hinsichtlich der Kostenstruktur würde ein Substituieren der Chromatographie den Prozess um 40 % kosteneffizienter machen (vgl. [Sixt 2018a]). Dies besitzt vor allem unter der Betrachtung, dass es sich um ein non-profit Medikament handeln soll, einen großen Mehrwert.

6 Zusammenfassung und Ausblick

Die in dieser Arbeit gezeigten modellgestützten Prozessentwicklungen zeigen sowohl die Vorteile als auch die Herausforderungen, die sich mit der Modellierung von Verfahrensschritten ergeben. Sowohl im Falle der kontinuierlichen Ultrafiltration als auch für eine absatzweise durchgeführte Kristallisation wurde hierbei der Prozess systematisch erarbeitet. Für beide Prozessmodelle wurden anlagenspezifische Eigenschaften von Charakteristiken, die auf der Lösung basieren, getrennt, um die Modelle möglichst flexibel zu gestalten.

Im Falle der kontinuierlichen Ultrafiltration wurde ein polyvalentes Modell entwickelt, mit dem der Filtrationsschritt für niedrige bis hohe Proteinkonzentrationen vorhergesagt werden kann. Mit der Trennung in geometrieabhängige Faktoren (Screens, Abmessungen etc.) und lösungsabhängige Faktoren (beispielsweise Konzentration, Viskosität) gelang es, selbst komplexe Verschaltungen der SPTFF mit lediglich einer Abweichung von 5 % zu prädictieren. Auch die Anwendung auf das Cadence® SPTFF-Kit zeigt, dass das entwickelte Modells auch für das kommerzielle Modul valide ist. Aus der durchgeführten Optimierungsstudie wurde deutlich, dass durch das Einsetzen einer weiteren Membrankassette in der dritten Stufe effektiver filtriert werden kann. Bedingt durch die Neigung von Proteinlösungen, Grenzschichten aufzubauen, konnte gezeigt werden, dass für beide Moleküle die Filtrationsleistung sinkt, sofern der TMP erhöht wird. Daher muss aus prozesstechnischer Sicht ein Abwägen zwischen Durchsatz und Konzentrationsfaktor getroffen werden.

Das erarbeitete Modell ist demnach ein vielseitiges Tool zur Prozessauslegung, welches zusätzlich zur Überwachung von kontinuierlichen Filtrationen eingesetzt werden kann. Weiterhin ist es denkbar, durch weitere Modifikationen dieses zu einem Diafiltrationsmodell zu erweitern. Hierzu müssten die lösungsbasierten Variablen (osmotischer Druck, Viskosität, Widerstand) in Abhängigkeit zu der Pufferzusammensetzung gebracht werden, um auch hier dynamisch den Prozess vorhersagen zu können.

Entgegen der kontinuierlichen Filtration zeigte sich für die Kristallisation von Artemisinin, dass es nicht möglich war, ein anwendbares Prozessmodell zu erarbeiten. Durch die erhöhte Komplexität der Kristalle (Transparenz, Kristallstruktur, Sensitivität) wurde deutlich, dass Informationen aus den durchgeführten Offline-Messmethoden nicht ausreichend sind, um die Partikelgrößenverteilung korrekt prädictieren zu können. Aus diesem Grund war eine weitere experimentelle Optimierungsstudie notwendig, wodurch der zeitliche und materielle Aufwand, im Vergleich zu der Ultrafiltration, deutlich gesteigert wurde. Mithilfe von innovativen Inline-Messmethoden könnte die aufgetretene Problematik in Zukunft überwunden werden.

Wird die durchgeführte, systematische Auslegung betrachtet, zeigt sich, dass mit dieser das Prozessverständnis deutlich gesteigert und ein definierter Prozess entwickelt werden konnte. Analog zur Ultrafiltration ergab sich auch für die Kristallisation, dass ein Abwägen der Prozessvariablen notwendig ist. Denn aus der Optimierungsstudie wurde deutlich, dass die Prozessparameter, die sich positiv auf die Ausbeute auswirken, oftmals zu kleinen, schwierig zu verarbeitenden Kristallen führten.

Weiterhin wurde eine Prozessintegrationsstudie durchgeführt. Mit den getätigten Experimenten konnte herausgearbeitet werden, dass der Chromatographieschritt ohne Qualitätsverlust durch die Kristallisation substituierbar ist. Somit kann der Gesamtprozess für Artemisinin verschlankt und die Produktionskosten um bis zu 40 % reduziert werden.

Die durchgeführten Arbeiten verdeutlichen, dass eine Prozessmodellierung umso einfacher und gewinnbringender ist, je mehr Variablen inline messbar sind. Auch eröffnen Inline- bzw. Online-Messungen die Möglichkeit Modelle nicht nur zur Auslegung, sondern auch zur Regelung der Prozesse zu verwenden. Eine solche Prozesskontrolle besäße vor allem für kontinuierliche Prozesse einen vielversprechenden Mehrwert, da damit Prozessschwankungen automatisch entgegengesteuert werden kann.

7 Tabellenverzeichnis

| | |
|--|-----|
| Tabelle 2.1: Klassierung von Membranverfahren. Adaptiert nach [Melin 2007]. | 7 |
| Tabelle 3.1: Literatur zur TFF Membranmodellierung. | 35 |
| Tabelle 3.2: Korrelationsgleichungen für den osmotischen Druck. | 41 |
| Tabelle 3.3: Virialkoeffizienten für den Osmotischen Druck von BSA und IgG. | 41 |
| Tabelle 3.4: Literatur zur Kristallisationsmodellierung | 47 |
| Tabelle 5.1: Sensitivitätsstudienparameter für die Ultrafiltration. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 68 |
| Tabelle 5.2: Geometrische Parameter und Membranwiderstand von einzelnen Membrankassetten. | 71 |
| Tabelle 5.3: Vergleich des Membranwiderstands für Parallelstrukturen für die TangenX Pro 30 kDa | 72 |
| Tabelle 5.4: Vergleich von VKF und Druckverlust für niedrig konzentrierte Proteinlösung. Adaptiert von [Huter 2019b]. | 78 |
| Tabelle 5.5: Vergleich von VKF und Druckverlust für hochkonzentrierte Proteinlösung. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 80 |
| Tabelle 5.6 Vergleich von VKF und Druckverlust für den optimierten Prozess. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 82 |
| Tabelle 5.7: Vergleich zwischen Experiment und Modell für das SPTFF Kit. | 85 |
| Tabelle 5.8: Sensitivitätsstudienparameter für die Kristallisation. | 89 |
| Tabelle 5.9: Kurzschlussströmungen und Totvolumina für den Rührkessel. | 92 |
| Tabelle 5.10: Vergleich Temperaturgradienten Kryostat und Rührkessel | 93 |
| Tabelle 5.11: Einfluss von Rührgeschwindigkeit und Temperaturgradient auf die Überlöslichkeit. Adaptiert von [Huter 2018]. | 94 |
| Tabelle 5.12: Löslichkeitskoeffizienten für reines Artemisinin. | 95 |
| Tabelle 5.13: Bruchparameterbestimmung | 98 |
| Tabelle 5.14: Prozessdesignstudie für den Kristallisationsschritt. Adaptiert von [Huter 2018]. | 101 |

8 Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 2.1: Schematischer Prozessablauf. Adaptiert von [Antranikian 2006]..... | 3 |
| Abbildung 2.2: Klassifizierung von Druck-basierten Filtrationsmethoden und deren..... Anwendungsgebiete. Adaptiert nach [Cheryan 1998]..... | 7 |
| Abbildung 2.3: Filtrationsanwendungen in einem Plattformprozess: Abtrennung von Feststoffen (grün), Konzentrationserhöhung (blau), Mediumswechsel (orange), Virusentfernung (rot). | 8 |
| Abbildung 2.4: Schematische Darstellung von Filtrationsbetriebsweisen: (a) Normalflussfiltration (b) Tangentialflussfiltration. Adaptiert nach [Charcosset 2012]. | 9 |
| Abbildung 2.5: Schematische Aufbauten Ultrafiltration (a) Single-Pass Tangentialflussfiltration.. (b) TFF mit Rückführung des Retentatstroms (c) „Feed and bleed“. Adaptiert von [Huter 2019b, Jungbauer 2013]. | 10 |
| Abbildung 2.6: Schematischer Aufbau einer mehrstufigen Single-Pass Tangentialflussfiltration... Adaptiert von [Huter 2019b]..... | 12 |
| Abbildung 2.7: Schematische Darstellung einer kontinuierlichen Diafiltration. Adaptiert nach.... [Jungbauer 2013]. | 13 |
| Abbildung 2.8: Schematische Darstellung einer Filtrationskassette | 13 |
| Abbildung 2.9: Schematischer Querschnitt einer Membrankassette. Adaptiert nach [Thiess 2017]. | 14 |
| Abbildung 2.10: Geometrische Charakteristiken des Screens. Adaptiert nach [Da Costa 1994,..... Thiess 2017]..... | 15 |
| Abbildung 2.11: Beispiel eines Kristallisationsverfahrens. Adaptiert nach [Sattler 2001]..... | 17 |
| Abbildung 2.12: Typisches Prozessdesign für pflanzliche Produkte. Adaptiert nach [Sixt 2017]. | 18 |
| Abbildung 2.13: Kühlungs-, Vakuum-, und Verdampfungskristallisation im..... Löslichkeitsdiagramm. Adaptiert nach [Sattler 2001] | 19 |
| Abbildung 2.14: Änderung der Gibbs-Energie bei der Keimbildung in Abhängigkeit des Radius. Adaptiert nach [Hofmann 2004]..... | 21 |

| | |
|---|----|
| Abbildung 2.15: Oberflächenstruktur eines wachsenden Kristalls A) Kontakt nur mit der Grundfläche B) Kontakt mit der Grundfläche und der Fläche der nächsten Schicht C) Kontakt mit der Grundfläche und der Einkerbung der nächsten Schicht. Adaptiert nach [Hofmann 2004]. | 24 |
| Abbildung 2.16: Verwachsene Feststoffbrückenbindung zweier Partikel. Adaptiert nach [Hofmann 2004]. | 25 |
| Abbildung 2.17: Graphische Darstellung von Einflüssen. Adaptiert nach [Saito 2001]. | 26 |
| Abbildung 2.18: Einschlusstypen und Kristallfehler. Adaptiert nach [Myerson 2002]. | 27 |
| Abbildung 3.1: Arbeitsschritte zur Erstellung eines Prozessmodells nach [Sixt 2018c]. | 31 |
| Abbildung 3.2: Massentransporte für eine Membranoperation. | 37 |
| Abbildung 3.3: Modellierungsansatz für eine kontinuierliche SPTFF. Adaptiert von [Huter 2019b]. | 43 |
| Abbildung 3.4: Abhängigkeit der Prozessvariablen von der Proteinkonzentration (a) osmotischer Druck (b) dynamische Viskosität. Adaptiert von [Huter 2019b]. | 45 |
| Abbildung 3.5: Skizzierte Änderung der Partikelgrößenverteilung durch Bruch. | 53 |
| Abbildung 3.6: Skizzierte Änderung der Partikelgrößenverteilung durch Agglomeration | 54 |
| Abbildung 4.1: Schematischer Aufbau des Ultrafiltrations-Versuchstandes. Adaptiert von [Huter 2019b]. | 56 |
| Abbildung 4.2: Parameterbestimmungsablauf Ultrafiltration. | 58 |
| Abbildung 4.3: Vorgangsschema für die Kristallisation. | 62 |
| Abbildung 5.1: Ishikawa-Diagramm für die Ultrafiltration. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 66 |
| Abbildung 5.2: Risikoanalyse Ultrafiltration. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 67 |
| Abbildung 5.3: Sensitivitätsdiagramme für (a) Volumetrischer Konzentrationsfaktor (b) Flux (c) Retentatkonzentration (d) Druckverlust. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 69 |
| Abbildung 5.4: 4x vergrößerte Aufnahmen von Screens a) Repligen TangenX™ L-Screen. (ausgeschnitten) b) Pall T01-Screen (Permeatscreen gemessen). | 70 |
| Abbildung 5.5: Ermittlung der Drag Koeffizienten für die Pall T01 30 kDa. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 71 |
| Abbildung 5.6: SEC-Diagramme für unterschiedliche IgG-Lösungen. Adaptiert von [Huter 2019b]. | 73 |

| | |
|---|----|
| Abbildung 5.7: (a) Vergleich der Filtrationsleistung von Wasser und leichter Phase (b)..... | |
| Entwicklung des Grenzschichtwiderstands über den Transmembrandruck. | |
| Adaptier von [Huter 2019b]. | 74 |
| Abbildung 5.8: Grenzschichtwiderstand für hochkonzentrierte Proteinlösungen. Adaptiert von | |
| [Huter 2019a]. | 75 |
| Abbildung 5.9: Vergleich zwischen Experimenten und Simulationen für Wasser. Adaptiert von | |
| [Huter 2019b]. | 76 |
| Abbildung 5.10: Versuchsverlauf mAb-Filtration. Adaptiert von [Huter 2019b]. | 77 |
| Abbildung 5.11: Vergleich axialer Profile Experiment und Simulation für niedrig konzentrierte | |
| mAb-Filtration. Adaptiert von [Huter 2019b]. | 78 |
| Abbildung 5.12: Vergleich axialer Profile von Experiment und Simulation für hochkonzentrierte | |
| Proteinlösungen. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 79 |
| Abbildung 5.13: Simulierte Werte für unterschiedlichen Aufbauten a) Volumetrischer | |
| Konzentrationsfaktor vs. Feeddruck b) Volumetrischer Konzentrationsfaktor vs. | |
| Permeatflux c) Feedflux vs. Permeatflux d) Feedflux vs. Permeatflux. Adaptiert | |
| von [Huter 2019a]. | 81 |
| Abbildung 5.14: Vergleich axialer Profile von Experiment und Simulation für den optimierten | |
| Prozess. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 82 |
| Abbildung 5.15: Correlation-loadings Plot zur Veranschaulichung der Variablenabhängigkeiten | |
| basierend auf Monte-Carlo Simulationen. Adaptiert von [Huter 2019a]. | 84 |
| Abbildung 5.16: Ishikawa-Diagramm Kristallisation. | 87 |
| Abbildung 5.17: Risikoanalyse Kristallisation. | 88 |
| Abbildung 5.18: Sensitivitätsdiagramme für (a) Ausbeute bezogen auf das thermodynamische ... | |
| Limit (b) Raum-Zeit-Ausbeute (c) x_{10} (d) x_{50} (e) x_{90} | 90 |
| Abbildung 5.19: Auswertung der Fluidodynamik für 100 RPM und 20 mL/min (a) Vergleich des | |
| Konzentrationsverlaufs von idealem Rührkessel und Messerwerten (b) | |
| linearisierte Kurve | 91 |
| Abbildung 5.20: Lösemittelscreening für Artemisinin. Adaptiert von [Huter 2018]. | 93 |
| Abbildung 5.21: Löslichkeit und Überlöslichkeit von Artemisinin. Adaptiert von [Huter 2018]. | 95 |

| | |
|--|-----|
| Abbildung 5.22: Partikelgrößenverteilungen der Agglomerations- und Bruchversuche (a) kleine Partikel, 100 RPM (b) kleine Partikel, 400 RPM (c) mittlere Partikel, 100 RPM (d) mittlere Partikel, 400 RPM (e) große Partikel, 100 RPM (f) große Partikel 500 RPM. Adaptiert von [Huter 2018]. | 97 |
| Abbildung 5.23: Isotherme Wachstumsversuche..... | 99 |
| Abbildung 5.24: Wachstumsfaktorbestimmung Kristallisation..... | 100 |
| Abbildung 5.25: Ergebnisse der Centerpoint-Versuche (CP) (a) Konzentrationsverläufe über Prozesszeit (b) Partikelgrößenverteilungen der Produktkristalle. Adaptiert von [Huter 2018]. | 102 |
| Abbildung 5.26: Auswertung des Prozessdesigns für die Ausbeute _{TDL} (a) Diagramm Vorhergesagt vs. Beobachtet (b) Pareto-Diagramm. | 103 |
| Abbildung 5.27: Einfluss der sensitiven Parameter auf die Ausbeute _{TDL} (a) Starttemperatur (b) Endtemperatur (c) Dauer..... | 104 |
| Abbildung 5.28: Konturdiagramme für die Ausbeute _{TDL} (a) Dauer vs. Endtemperatur..... (b) Starttemperatur vs. Dauer (c) Endtemperatur vs. Starttemperatur..... | 105 |
| Abbildung 5.29: Auswertung des Prozessdesigns für die Raum-Zeit-Ausbeute (a) Diagramm..... Vorhergesagt vs. Beobachtet (b) Pareto-Diagramm. | 106 |
| Abbildung 5.30: Einfluss der sensitiven Parameter auf die Raum-Zeit-Ausbeute (a) Endtemperatur (b) Dauer (c) Endtemperatur x Dauer und (d) Konturdiagramm für die Raum-Zeit-Ausbeute: Dauer vs. Endtemperatur..... | 107 |
| Abbildung 5.31: Auswertung des Prozessdesigns für x_{10} (a) Diagramm Vorhergesagt vs. Beobachtet (b) Pareto-Diagramm | 108 |
| Abbildung 5.32: Einfluss der sensitiven Parameter auf die für x_{10} (a) Endtemperatur (b) Dauer (c) Dauer x Starttemperatur und (d) Konturdiagramm für x_{10} : Dauer vs. Übersättigung..... | 109 |
| Abbildung 5.33: Auswertung des Prozessdesigns für x_{50} (a) Diagramm Vorhergesagt vs. Beobachtet (b) Pareto-Diagramm. | 110 |
| Abbildung 5.34: Einfluss der sensitiven Parameter auf x_{50} (a) Übersättigung (b) Endtemperatur .. (c) Starttemperatur x Endtemperatur (d) Übersättigung x Dauer..... | 110 |

| | |
|--|-----|
| Abbildung 5.35: Konturdiagramme für x_{50} (a) Endtemperatur vs. Übersättigung | |
| (b) Endtemperatur vs. Starttemperatur (c) Dauer vs. Übersättigung. | 111 |
| Abbildung 5.36: Auswertung des Prozessdesigns für x_{90} (a) Diagramm Vorhergesagt vs. | |
| Beobachtet (b) Pareto-Diagramm. | 112 |
| Abbildung 5.37: Einfluss der sensitiven Parameter auf x_{90} (a) Übersättigung (b) Starttemperatur | |
| (c) Endtemperatur (d) Starttemperatur vs. Endtemperatur. | 113 |
| Abbildung 5.38: Konturdiagramme für die x_{90} (a) Starttemperatur vs. Übersättigung | |
| (b) Starttemperatur vs. Endtemperatur (c) Endtemperatur vs. Übersättigung. | |
| | 114 |
| Abbildung 5.39: Chromatogramme der aufgelösten Kristalle, Mutterlauge und des Feed- | |
| Materials für (a) LLE-Raffinat (b) Chromatographie-Fraktion. Adaptiert von | |
| [Huter 2018]. | 116 |
| Abbildung 5.40: HNMR-Analyse diverser Lösungen aus dem System. Adaptiert von | |
| [Huter 2018]. | 117 |
| Abbildung 5.41: Reduzierter Artemisininprozess. Adaptiert von [Huter 2018]. | 117 |
| Abbildung 5.42: Löslichkeit- und Überlöslichkeitskurve für beide Kristallisationsschritte, | |
| ermittelt mit polythermer Methode | 118 |

9 Symbole und Indizes

| Buchstabe/Symbol | Bedeutung |
|------------------|---|
| A | Fläche, m ² |
| c | Konzentration in der flüssigen Phase, g/L |
| c _M | Konzentration an der Membran, g/L |
| c _B | Konzentration im Bulk, g/L |
| c _F | Konzentration im Feed, g/L |
| c _{Ret} | Konzentration im Retentat, g/L |
| d _h | Hydraulischer Durchmesser, m |
| D _p | Molekularer Diffusionskoeffizient, m ² /s |
| J _v | Volumetrischer Flux, L/m ² /h |
| k _f | Massentransferkoeffizient, m/s |
| k _v | Volumetrischer Formfaktor, - |
| L _{ch} | Kanallänge, m |
| P | Druck, bar |
| p ^{OSM} | Osmotischer Druck, bar |
| q ₀ | Partikeldichtevertelung (Anzahl), 1/mm |
| Q ₀ | Partikelsummenvertelung (Anzahl), - |
| q ₃ | Partikeldichtevertelung (Volumen), 1/mm |
| Q ₃ | Partikelsummenvertelung (Volumen), - |
| R _M | Intrinsischer Membranwiderstand, 1/m |
| R _{BL} | Grenzschichtwiderstand, 1/m |
| S | Übersättigung, - |
| Sc | Schmidt-Zahl, - |
| SC | Nebenkomponente |
| Sh | Sherwood-Zahl |
| T | Temperatur, °C |
| TMP | Transmembrandruck, bar |
| u _{eff} | Effektive Geschwindigkeit, m/s |
| V | Volumen, dm ³ |
| w _{ch} | Kanalbreite, m |
| x | Partikeldurchmesser (Feret max.), μm |
| x ₁₀ | Partikelgröße bei 10 % der Partikelsumme, μm |
| x ₅₀ | Partikelgröße bei 50 % der Partikelsumme, μm |
| x ₉₀ | Partikelgröße bei 90 % der Partikelsumme, μm |
| X _c | Dragfaktor-Koeffizient, - |
| X _R | Grenzschichtwiderstandskoeffizient, g ² ·s ² /dm ⁵ |
| Y _c | Dragfaktor-Exponent, - |
| Y _R | Exponent für Grenzflächenwiderstand - |
| q _L | Dichte der Lösung, g/L |
| η _L | Dynamische Viskosität der Lösung, g/m/s |
| η _p | Dynamische Viskosität des Permeats, g/m/s |

| Abkürzung | Bedeutung |
|------------------|--|
| BLM | Boundary Layer Modell |
| BSA | Bovine Serum Albumin |
| CWRT | Clean Water Resistance Test |
| DoE | Design of Experiments |
| DSP | Downstream Processing |
| ELSD | Evaporation Light Scattering Detector |
| FMEA | Failure Modes and Effect Analysis |
| HPLC | High performance liquid chromatography |
| H-NMR | Magnetresonanzspektroskopie |
| MSZW | Breite des metastabilen Bereichs |
| OPEX | Operational expenditure |
| PAT | Process analytical technology |
| PLS | Partial least square |
| QbD | Quality by design |
| RPM | Umdrehungen pro Minute |
| SFM | Stagnant Film Modell |
| STY | Raum-Zeit-Ausbeute |
| TC | Target component |
| VKF | Volumetrischer Konzentrationsfaktor, - |

10 Literaturverzeichnis

- [Aamir 2010] Aamir, E. (2010): *Population balance model-based optimal control of batch crystallisation processes for systematic crystal size distribution design*, Loughborough University
- [Aguirre Montesdeoca 2016] Aguirre Montesdeoca, V., van der Padt, A., Boom, R. M., Janssen, A. E.M. (2016): *Modelling of membrane cascades for the purification of oligosaccharides*, *Journal of Membrane Science*, 520, 712–722, DOI: 10.1016/j.memsci.2016.08.031
- [Aguirre Montesdeoca 2018] Aguirre Montesdeoca, V., Janssen, A. E. M. (2018): *Membrane filtration of food streams, Mechanisms and modelling*, Wageningen University, Wageningen
- [Ahmad 2006] Ahmad, A. L., Chong, M. F., Bhatia, S. (2006): *Ultrafiltration modeling of multiple solutes system for continuous cross-flow process*, *Chem. Eng. Sci.*, 61 (15), 5057–5069, DOI: 10.1016/j.ces.2006.03.017
- [Alford 2008] Alford, J. R., Kendrick, B. S., Carpenter, J. F., Randolph, T. W. (2008): *High Concentration Formulations of Recombinant Human Interleukin-1 Receptor Antagonist: II. Aggregation Kinetics*, *Journal of pharmaceutical sciences*, 97 (8), 3005–3021, DOI: 10.1002/jps.21205
- [Alvarez 2010] Alvarez, A. J., Myerson, A. S. (2010): *Continuous Plug Flow Crystallization of Pharmaceutical Compounds*, *Cryst. Growth Des.*, 10 (5), 2219–2228, DOI: 10.1021/cg901496s
- [Antranikian 2006] Antranikian, G. (2006): *Angewandte Mikrobiologie*, Springer-Lehrbuch, Springer, Berlin [u.a.]
- [Atkins 2006] Atkins, P. W. (2006): *Physikalische Chemie*, 4.Aufl., Wiley-VCH, Weinheim

- [Bäbler 2007] Bäbler, M. U. (2007): *Modeling of Aggregation and Breakage of Colloidal Aggregates in Turbulent Flows. Dissertation*, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
- [Badrnezhad 2014] Badrnezhad, R., Mirza, B. (2014): *Modeling and optimization of cross-flow ultrafiltration using hybrid neural network-genetic algorithm approach*, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20 (2), 528–543, DOI: 10.1016/j.jiec.2013.05.012
- [Baker 2012] Baker, R. W. (2012): *Membrane technology and applications*, 3.Aufl., Wiley, Chichester, UK
- [Beckmann 2013] Beckmann, W., Lorenz, H., Hofmann, G., Nienhaus, B. (2013): *Crystallization, Basic concepts and industrial applications*, Wiley-VCH, Weinheim
- [Binabaji 2014] Binabaji, E., Rao, S., Zydney, A. L. (2014): *The osmotic pressure of highly concentrated monoclonal antibody solutions*, *Biotechnol. Bioeng.*, 111 (3), 529–536, DOI: 10.1002/bit.25104
- [Binabaji 2015a] Binabaji, E., Ma, J., Zydney, A. L. (2015): *Intermolecular Interactions and the Viscosity of Highly Concentrated Monoclonal Antibody Solutions*, *Pharmaceutical Research*, 32 (9), 3102–3109, DOI: 10.1007/s11095-015-1690-6
- [Binabaji 2015b] Binabaji, E., Ma, J., Rao, S., Zydney, A. L. (2015): *Theoretical analysis of the ultrafiltration behavior of highly concentrated protein solutions*, *Journal of Membrane Science*, 494, 216–223, DOI: 10.1016/j.memsci.2015.07.068
- [Binabaji 2016] Binabaji, E., Ma, J., Rao, S., Zydney, A. L. (2016): *Ultrafiltration of highly concentrated antibody solutions: Experiments and modeling for the effects of module and buffer conditions*, *Biotechnology progress*, 32 (3), 692–701, DOI: 10.1002/btpr.2252

- [Blandin 2001] Blandin, A. F., Mangin, D., Nallet, V., Klein, J. P., Bossoutrot, J. M. (2001): *Kinetics identification of salicylic acid precipitation through experiments in a batch stirred vessel and a T-mixer*, *Chemical Engineering Journal*, 81 (1-3), 91–100, DOI: 10.1016/S1385-8947(00)00227-8
- [Bogacz 2014] Bogacz, W., Wójcik, J. (2014): *The metastable zone of aqueous solutions*, *Chemik*, 68 (3), 198–201, DOI:
- [Borsos 2014] Borsos, Á., Majumder, A., Nagy, Z. K., in *24th European Symposium on Computer Aided Process Engineering*, Vol. 33, Computer Aided Chemical Engineering, Elsevier 2014
- [Borsos 2016] Borsos, A., Majumder, A., Nagy, Z. K. (2016): *Multi-Impurity Adsorption Model for Modeling Crystal Purity and Shape Evolution during Crystallization Processes in Impure Media*, *Cryst. Growth Des.*, 16 (2), 555–568, DOI: 10.1021/acs.cgd.5b00320
- [Both 2015] Both, S. (2015): *Systematische Verfahrensentwicklung für pflanzlich basierte Produkte im regulatorischen Umfeld*, *Thermische Verfahrens- und Prozesstechnik*, Shaker, Aachen
- [Bowen 1998] Bowen, W.R., Jones, M. G., Yousef, H. N.S. (1998): *Dynamic ultrafiltration of proteins – A neural network approach*, *Journal of Membrane Science*, 146 (2), 225–235, DOI: 10.1016/S0376-7388(98)00108-2
- [Bowen 2007] Bowen, W. R., Williams, P. M. (2007): *Quantitative predictive modelling of ultrafiltration processes: colloidal science approaches*, *Advances in Colloid and Interface Science*, 134-135, 3–14, DOI: 10.1016/j.cis.2007.04.005
- [Briesen 2006] Briesen, H. (2006): *Simulation of crystal size and shape by means of a reduced two-dimensional population balance model*, *Chem. Eng. Sci.*, 61 (1), 104–112, DOI: 10.1016/j.ces.2004.11.062

- [Briesen 2008] Briesen, H. (2008): *Modeling of suspension crystallization processes with complex particle characterization. Habilitationsschrift*, Rheinisch Westfälische Technische Hochschule Aachen
- [Brito 2009] Brito, P., Gando-Ferreira, L. M., Portugal, A. (2009): *Simulation of Membrane Separations Using a Modified Maxwell-Stefan Model*, *Chemical Product and Process Modeling*, 4 (4), DOI: 10.2202/1934-2659.1314
- [Caillet 2007] Caillet, A., Sheibat-Othman, N., Fevotte, G. (2007): *Crystallization of Monohydrate Citric Acid. 2. Modeling through Population Balance Equations*, *Cryst. Growth Des.*, 7 (10), 2088–2095, DOI: 10.1021/cg0606343
- [Cao 2012] Cao, Y., Kariwala, V., Nagy, Z. K. (2012): *Parameter Estimation for Crystallization Processes using Taylor Method**, *IFAC Proceedings Volumes*, 45 (15), 880–885, DOI: 10.3182/20120710-4-SG-2026.00079
- [Chan 1997] Chan, K.-L., Yuen, K.-H., Takayanagi, H. (1997): *Polymorphism of Artemisinin from Artemisia Annua*, *Phytochemistry* (46), 1209–1214, DOI:
- [Charcosset 2012] Charcosset, C. (2012): *Membrane Processes in Biotechnology and Pharmaceuticals*, Elsevier Verlag, Oxford
- [Chemat 2015] Chemat, F., Strube, J. (2015): *Green Extraction of Natural Products, Theory and Practice*, 1.Aufl., Wiley-VCH, s.l.
- [Cheng 2001] Cheng, T.-W., Wu, J.-G. (2001): *Modified boundary layer resistance model for membrane ultrafiltration*, *Tamkang Journal of Science and Engineering*, 4 (2), 111–118, DOI:
- [Cheryan 1998] Cheryan, M. (1998): *Ultrafiltration and microfiltration handbook*, Technomic Pub. Co, Lancaster, Pa.

- [Chmiel 2011] Chmiel, H. (2011): *Bioprozesstechnik*, 3.Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- [Codan 2013] Codan, L., Eckstein, C. F., Mazzotti, M. (2013): *Growth Kinetics of S-Mandelic Acid in Aqueous Solutions in the Presence of R-Mandelic Acid*, *Crystal Growth & Design*, 13 (2), 652–663, DOI: 10.1021/cg3013238
- [Cornel 2009] Cornel, J., Lindenberg, C., Mazzotti, M. (2009): *Experimental Characterization and Population Balance Modeling of the Polymorph Transformation of l-Glutamic Acid*, *Cryst. Growth Des.*, 9 (1), 243–252, DOI: 10.1021/cg800387a
- [Curcio 2009] Curcio, S., Calabrò, V., Iorio, G. (2009): *Reduction and control of flux decline in cross-flow membrane processes modeled by artificial neural networks and hybrid systems*, *Desalination*, 236 (1-3), 234–243, DOI: 10.1016/j.desal.2007.10.072
- [Da Costa 1994] Da Costa, A. R., Fane, A. G., Wiley, D. E. (1994): *Spacer characterization and pressure drop modelling in spacer-filled channels for ultrafiltration*, *Journal of Membrane Science*, 87 (1), 79–98, DOI: 10.1016/0376-7388(93)E0076-P
- [David 1991] David, R., Villermaux, J., Marchal, P., Klein, J.-P. (1991): *Crystallization and precipitation engineering—IV. Kinetic model of adipic acid crystallization*, *Chem. Eng. Sci.*, 46 (4), 1129–1136, DOI: 10.1016/0009-2509(91)85105-7
- [Degerman 2009] Degerman, M., Westerberg, K., Nilsson, B. (2009): *A Model-Based Approach to Determine the Design Space of Preparative Chromatography*, *Chem. Eng. Technol.*, 32 (8), 1195–1202, DOI: 10.1002/ceat.200900102
- [del Val 2010] del Val, I. J., Kontoravdi, C., Nagy, J. M. (2010): *Towards the implementation of quality by design to the production of therapeutic*

- monoclonal antibodies with desired glycosylation patterns, Biotechnology progress, 26 (6), 1505–1527, DOI: 10.1002/btpr.470*
- [Ditz 2017] Ditz, R. et al. (2017): *Phytoextracts, Proposal towards a new comprehensive Research Focus*, Frankfurt
- [Dizon-Maspat 2012] Dizon-Maspat, J., Bourret, J., D'Agostini, A., Li, F. (2012): *Single pass tangential flow filtration to debottleneck downstream processing for therapeutic antibody production, Biotechnol. Bioeng., 109 (4), 962–970, DOI: 10.1002/bit.24377*
- [Drioli 2016] Drioli, E., Giorno, L. (2016): *Encyclopedia of Membranes*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, s.l.
- [ElFeraly 1990] ElFeraly, US 4952603, 1990
- [EMA 2011] EMA, FDA: *Pilot program for parallel assessment of Quality by Design applications*
- [FDA 2003] FDA: ICH, *Guidance for Industry - Pharmacogenomic Data Submissions*
- [FDA 2004a] FDA: ICH, *Guidance for Industry: PAT -A framework for innovative Pharmaceutical Development*
- [FDA 2004b] FDA: ICH, *Guidance for Industry — Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing - Current Good Manufacturing Practice*
- [FDA 2005] FDA: ICH, *Guidance for Industry - Quality Risk Management Q9*
- [FDA 2008] FDA: ICH, *Guidance for Industry - Pharmaceutical Quality System Q10*
- [FDA 2009] FDA: ICH, *Guidance for Industry - Pharmaceutical development Q8*
- [FDA 2013] FDA: ICH, *Guidance for Industry - Development and Manufacturing of Drug Substances Q11*

- [Fröhlich 2012] Fröhlich, H., Villian, L., Melzner, D., Strube, J. (2012): *Membrane Technology in Bioprocess Science, Chemie Ingenieur Technik*, 297 (4), DOI: 10.1002/cite.201200025
- [Gerstlauer 2002] Gerstlauer, A., Motz, S., Mitrović, A., Gilles, E.-D. (2002): *Development, analysis and validation of population models for continuous and batch crystallizers*, *Chem. Eng. Sci.*, 57 (20), 4311–4327, DOI: 10.1016/S0009-2509(02)00348-2
- [Gherras 2012] Gherras, N., Fevotte, G. (2012): *On the use of process analytical technologies and population balance equations for the estimation of crystallization kinetics. A case study*, *AIChE J.*, 58 (9), 2650–2664, DOI: 10.1002/aic.12776
- [Glade 2004] Glade, H., Ilyaskarov, A. M., Ulrich, J. (2004): *Determination of Crystal Growth Kinetics Using Ultrasonic Technique*, *Chem. Eng. Technol.*, 27 (7), 736–740, DOI: 10.1002/ceat.200403217
- [Gnielinski 1993] Gnielinski, V., Mersmann, A., Thurner, F. (1993): *Verdampfung, Kristallisation, Trocknung*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, s.l.
- [Goldsmith 1971] Goldsmith, R. L. (1971): *Macromolecular Ultrafiltration with Microporous Membranes*, *Ind. Eng. Chem. Fund.*, 10 (1), 113–120, DOI: 10.1021/i160037a019
- [Gronemeyer 2016] Gronemeyer, P., Ditz, R., Strube, J. (2016): *Implementation of aqueous two-phase extraction combined with precipitation in a monoclonal antibody manufacturing process*, *Chimica Oggi/Chemistry Today*, 34 (3), 66–70, DOI:
- [Grote 2011] Grote, F., Fröhlich, H., Strube, J. (2011): *Integration of Ultrafiltration Unit Operations in Biotechnology Process Design*, *Chem. Eng. Technol.*, 34 (5), 673–687, DOI: 10.1002/ceat.201000484

- [Grote 2012] Grote, F., Fröhlich, H., Strube, J. (2012): *Integration of Reverse-Osmosis Unit Operations in Biotechnology Process Design*, *Chem. Eng. Technol.*, 35 (1), 191–197, DOI: 10.1002/ceat.201100182
- [Guadix 2010] Guadix, A., Zapata, J. E., Almecija, M. C., Guadix, E. M. (2010): *Predicting the flux decline in milk cross-flow ceramic ultrafiltration by artificial neural networks*, *Desalination*, 250 (3), 1118–1120, DOI: 10.1016/j.desal.2009.09.121
- [Guiochon 2006] Guiochon, G. (2006): *Fundamentals of preparative and nonlinear chromatography*, 2.Aufl., Elsevier Acad. Press, Amsterdam
- [Gunawan 2004] Gunawan, R., Fusman, I., Braatz, R. D. (2004): *High resolution algorithms for multidimensional population balance equations*, *AIChE J.*, 50 (11), 2738–2749, DOI: 10.1002/aic.10228
- [Gunawan 2008] Gunawan, R., Fusman, I., Braatz, R. D. (2008): *Parallel high-resolution finite volume simulation of particulate processes*, *AIChE J.*, 54 (6), 1449–1458, DOI: 10.1002/aic.11484
- [Harjo 2004] Harjo, B., Wibowo, C., Ng, K. M. (2004): *Development of Natural Product Manufacturing Processes*, *Chem. Eng. Res. Des.*, 82 (8), 1010–1028, DOI: 10.1205/0263876041580695
- [Hebbi 2020] Hebbi, V., Roy, S., Rathore, A. S., Shukla, A. (2020): *Modeling and prediction of excipient and pH drifts during ultrafiltration/diafiltration of monoclonal antibody biotherapeutic for high concentration formulations*, *Separation and Purification Technology*, 238, 116392, DOI: 10.1016/j.seppur.2019.116392
- [Hofmann 2004] Hofmann, G., Beckmann, W. (2004): *Kristallisation in der industriellen Praxis*, Wiley-VCH, Weinheim
- [Hounslow 1998] Hounslow, M. (1998): *The Population Balance as a Tool for Understanding Particle Rate Processes*, *KONA*, 16 (0), 179–193, DOI: 10.14356/kona.1998021

- [Hulburt 1964] Hulburt, H. M., Katz, S. (1964): *Some problems in particle technology*, *Chem. Eng. Sci.*, 19 (8), 555–574, DOI: 10.1016/0009-2509(64)85047-8
- [Huter 2018] Huter, M., Schmidt, A., Mestmäcker, F., Sixt, M., Strube, J. (2018): *Systematic and Model-Assisted Process Design for the Extraction and Purification of Artemisinin from Artemisia annua L. — Part IV: Crystallization, Processes*, 6 (10), 181, DOI: 10.3390/pr6100181
- [Huter 2019a] Huter, M. J., Jenssch, C., Strube, J. (2019): *Model Validation and Process Design of Continuous Single Pass Tangential Flow Filtration Focusing on Continuous Bioprocessing for High Protein Concentrations*, *Processes*, 7 (11), 781, DOI: 10.3390/pr7110781
- [Huter 2019b] Huter, M. J., Strube, J. (2019): *Model-Based Design and Process Optimization of Continuous Single Pass Tangential Flow Filtration Focusing on Continuous Bioprocessing*, *Processes*, 7 (6), 317, DOI: 10.3390/pr7060317
- [Jaffrin 1994] Jaffrin, M. Y., Charrier, J.P. (1994): *Optimization of ultrafiltration and diafiltration processes for albumin production*, *Journal of Membrane Science*, 97, 71–81, DOI: 10.1016/0376-7388(94)00148-r
- [Jones 1993] Jones, K. L., Odderstol, E. S., Wetterau, G. E., Clark, M. M. (1993): *Using a Hydraulic Model to Predict Hollow-Fiber UF Performance*, *Journal - American Water Works Association*, 85 (10), 87–97, DOI: 10.1002/j.1551-8833.1993.tb06083.x
- [Josch 2012] Josch, J. P., Both, S., Strube, J. (2012): *Characterization of Feed Properties for Conceptual Process Design Involving Complex Mixtures, Such as Natural Extracts*, *FNS*, 03 (06), 836–850, DOI: 10.4236/fns.2012.36112
- [Jungbauer 2013] Jungbauer, A. (2013): *Continuous downstream processing of biopharmaceuticals*, *Trends in biotechnology*, 31 (8), 479–492, DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.05.011

- [Kanani 2007] Kanani, D. M., Ghosh, R. (2007): *A constant flux based mathematical model for predicting permeate flux decline in constant pressure protein ultrafiltration*, *Journal of Membrane Science*, 290 (1-2), 207–215, DOI: 10.1016/j.memsci.2006.12.030
- [Karode 2001] Karode, S. K. (2001): *Unsteady state flux response: a method to determine the nature of the solute and gel layer in membrane filtration*, *Journal of Membrane Science*, 188 (1), 9–20, DOI: 10.1016/S0376-7388(00)00644-X
- [Kassing 2012] Kassing, M., Jenelten, U., Schenk, J., Hänsch, R., Strube, J. (2012): *Combination of Rigorous and Statistical Modeling for Process Development of Plant-Based Extractions Based on Mass Balances and Biological Aspects*, *Chem. Eng. Technol.*, 35 (1), 109–132, DOI: 10.1002/ceat.201100268
- [Kedem 1958] Kedem, O., Katchalsky, A. (1958): *Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes*, *Biochimica et Biophysica Acta*, 27, 229–246, DOI: 10.1016/0006-3002(58)90330-5
- [Kim 2001] Kim, K.-J., Mersmann, A. (2001): *Estimation of metastable zone width in different nucleation processes*, *Chem. Eng. Sci.*, 56 (7), 2315–2324, DOI: 10.1016/S0009-2509(00)00450-4
- [Kobari 2010] Kobari, M., Kubota, N., Hirasawa, I. (2010): *Simulation of metastable zone width and induction time for a seeded aqueous solution of potassium sulfate*, *Journal of Crystal Growth*, 312 (19), 2734–2739, DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2010.05.042
- [Konstantinov 2011] Konstantinov, K. (2011): *Continuous bioprocessing: an interview with Konstantin Konstantinov from Genzyme. Interviewed by Prof. Alois Jungbauer and Dr. Judy Peng*, *Biotechnology Journal*, 6 (12), 1431–1433, DOI: 10.1002/biot.201100464

- [Konstantinov 2015] Konstantinov, K. B., Cooney, C. L. (2015): *White Paper on Continuous Bioprocessing May 20–21 2014 Continuous Manufacturing Symposium, Journal of pharmaceutical sciences*, 104 (3), 813–820, DOI: 10.1002/jps.24268
- [Kornecki 2019] Kornecki, M., Strube, J. (2019): *Accelerating Biologics Manufacturing by Upstream Process Modelling, Processes*, 7 (3), 166, DOI: 10.3390/pr7030166
- [Koudous 2017] Koudous, I. (2017): *Stoffdatenbasierte Verfahrensentwicklung zur Isolierung von Wertstoffen aus Pflanzenextrakten*, 1.Aufl., Thermische Verfahrens- und Prozesstechnik, Shaker, Herzogenrath
- [Kumar 1996a] Kumar, S., Ramkrishna, D. (1996): *On the solution of population balance equations by discretization — I. A fixed pivot technique*, *Chem. Eng. Sci.*, 51 (8), 1311–1332, DOI: 10.1016/0009-2509(96)88489-2
- [Kumar 1996b] Kumar, S., Ramkrishna, D. (1996): *On the solution of population balance equations by discretization — II. A moving pivot technique*, *Chem. Eng. Sci.*, 51 (8), 1333–1342, DOI: 10.1016/0009-2509(95)00355-X
- [Kumar 1997] Kumar, S., Ramkrishna, D. (1997): *On the solution of population balance equations by discretization — III. Nucleation, growth and aggregation of particles*, *Chem. Eng. Sci.*, 52 (24), 4659–4679, DOI: 10.1016/S0009-2509(97)00307-2
- [Kumar, S., Gupta Kumar, S., Singh, D. 2004] Kumar, S., Gupta Kumar, S., Singh, D., *US 6685972 B2*, 2004
- [Kwon 2014] Kwon, J. S.-I., Nayhouse, M., Christofides, P. D., Orkoulas, G. (2014): *Modeling and control of crystal shape in continuous protein crystallization*, *Chemical Engineering Science*, 107 (0), 47–57, DOI: 10.1016/j.ces.2013.12.005

- [Lapkin] Lapkin, A. A., Walker, A., Sullivan, N., Khambay, B., Mlambo, B., Chemat, S.: *Development of HPLC analytical protocol for artemisinin quantification in plant materials and extracts*, DOI: 10.1016/j.jpba.2009.01.025
- [Lapkin 2010] Lapkin, A. A., Peters, M., Greiner, L., Chemat, S., Leonhard, K., Liauw, M. A., Leitner, W. (2010): *Screening of new solvents for artemisinin extraction process using ab initio methodology*, *Green Chem*, 12 (2), 241–251, DOI: 10.1039/B922001A
- [Lee 1997] Lee, Y., Clark, M. M. (1997): *A numerical model of steady-state permeate flux during cross-flow ultrafiltration*, *Desalination*, 109 (3), 241–251, DOI: 10.1016/s0011-9164(97)00070-2
- [Lee 1998] Lee, Y., Clark, M. M. (1998): *Modeling of flux decline during crossflow ultrafiltration of colloidal suspensions*, *Journal of Membrane Science*, 149 (2), 181–202, DOI: 10.1016/S0376-7388(98)00177-x
- [Lee 2015] Lee, S. L. (2015): *Regulatory Initiatives for Supporting Innovation in Pharmaceutical Manufacturing*, Washington DC
- [Leveque 1928] Leveque, M. A. (1928): *Les Lois de la Transmission de Chaleur par Convection*, *Annals de Mines*, 13, 201–299, DOI:
- [Lévesque 2012] Lévesque, F., Seeberger, P. H. (2012): *Continuous-Flow Synthesis of the Anti-Malaria Drug Artemisinin*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 51 (7), 1706–1709, DOI: 10.1002/anie.201107446
- [Liiri 2002] Liiri, M. (2002): *Secondary nucleation due to crystal-impeller and crystal vessel collision by population balances in CFD-modelling*, *Journal of Crystal Growth*, 2188–2193, DOI:
- [Lim 2002] Lim, Y. I., Le Lann, J.-M., Meyer, X. M., Joulia, X., Lee, G., Yoon, E. S. (2002): *On the solution of population balance equations (PBE) with accurate front tracking methods in practical crystallization processes*,

- Chem. Eng. Sci.*, 57 (17), 3715–3732, DOI: 10.1016/S0009-2509(02)00236-1
- [Lindenberg 2008] Lindenberg, C., Schöll, J., Vicum, L., Mazzotti, M., Brozio, J. (2008): *l-Glutamic Acid Precipitation: Agglomeration Effects*, *Cryst. Growth Des.*, 8 (1), 224–237, DOI: 10.1021/cg070161f
- [Lindenberg 2009a] Lindenberg, C., Krättli, M., Cornel, J., Mazzotti, M., Brozio, J. (2009): *Design and Optimization of a Combined Cooling/Antisolvent Crystallization Process*, *Cryst. Growth Des.*, 9 (2), 1124–1136, DOI: 10.1021/cg800934h
- [Lindenberg 2009b] Lindenberg, C. (2009): *Optimizing the precipitation of organic compounds*. Dissertation, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
- [Liu 2009a] Liu, J. J., Ma, C. Y., Hu, Y. D., Wang, X. Z., in *10th International Symposium on Process Systems Engineering: Part A*, Vol. 27, Computer Aided Chemical Engineering, Elsevier 2009
- [Liu 2009b] Liu, Y., Lü, H., Pang, F. (2009): *Solubility of Artemisinin in Seven Different Pure Solvents from (283.15 to 323.15) K*, *J. Chem. Eng. Data*, 54 (3), 762–764, DOI: 10.1021/je800515w
- [Liu 2010] Liu, J. J., Ma, C. Y., Hu, Y. D., Wang, X. Z. (2010): *Effect of seed loading and cooling rate on crystal size and shape distributions in protein crystallization — A study using morphological population balance simulation*, *Computers & Chemical Engineering*, 34 (12), 1945–1952, DOI: 10.1016/j.compchemeng.2010.06.020
- [Liu 2011] Liu, N. Q., Schuehly, W., Freyhold, M. von, van der Kooy, F. (2011): *A novel purification method of artemisinin from Artemisia annua*, *Industrial Crops and Products*, 34 (1), 1084–1088, DOI: 10.1016/j.indcrop.2011.03.023

- [Liu 2015] Liu, J., Svärd, M., Rasmuson, Å. C. (2015): *Influence of Agitation on Primary Nucleation in Stirred Tank Crystallizers*, *Cryst. Growth Des.*, 15 (9), 4177–4184, DOI: 10.1021/cg501791q
- [Lorenz 2011] Lorenz, H., Ulrich, J. (2011): *Meißener Klausurtagung, Chemie Ingenieur Technik*, 83 (12), 2089–2092, DOI: 10.1002/cite.201100117
- [Lucke 2018] Lucke, M., Koudous, I., Sixt, M., Huter, M. J., Strube, J. (2018): *Integrating crystallization with experimental model parameter determination and modeling into conceptual process design for the purification of complex feed mixtures*, *Chem. Eng. Res. Des.*, 133, 264–280, DOI: 10.1016/j.cherd.2018.03.029
- [Lucke 2019] Lucke, M. (2019): *Methode zur modellbasierten Auslegung der Kristallisation von Reinstoffen aus komplexen Feedgemischen*, 1.Aufl., Thermische Verfahrens- und Prozesstechnik, Shaker, Düren
- [Ma 2002] Ma, D. L., Tafti, D. K., Braatz, R. D. (2002): *High-Resolution Simulation of Multidimensional Crystal Growth*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 41 (25), 6217–6223, DOI: 10.1021/ie010680u
- [Ma 2008] Ma, C. Y., Wang, X. Z., Roberts, K. J. (2008): *Morphological population balance for modeling crystal growth in face directions*, *AIChE J.*, 54 (1), 209–222, DOI: 10.1002/aic.11365
- [Ma 2012] Ma, C. Y., Wang, X. Z. (2012): *Model identification of crystal facet growth kinetics in morphological population balance modeling of l-glutamic acid crystallization and experimental validation*, *Chem. Eng. Sci.*, 70, 22–30, DOI: 10.1016/j.ces.2011.05.042
- [Majumder 2013] Majumder, A., Nagy, Z. K. (2013): *Prediction and control of crystal shape distribution in the presence of crystal growth modifiers*, *Chem. Eng. Sci.*, 101, 593–602, DOI: 10.1016/j.ces.2013.07.017
- [Malwade 2013a] Malwade, C. R., Qu, H., Rong, B.-G., Christensen, L. P. (2013): *Conceptual Process Synthesis for Recovery of Natural Products from*

- Plants: A Case Study of Artemisinin from Artemisia annua*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 52 (22), 7157–7169, DOI: 10.1021/ie302495w
- [Malwade 2013b] Malwade, C. R., Qu, H., Rong, B.-G., Christensen, L. P. (2013): *Purification of artemisinin from quercetin by anti-solvent crystallization*, *Front. Chem. Sci. Eng.*, 7 (1), 72–78, DOI: 10.1007/s11705-013-1305-x
- [Malwade 2016] Malwade, C. R., Buchholz, H., Rong, B.-G., Qu, H., Christensen, L. P., Lorenz, H., Seidel-Morgenstern, A. (2016): *Crystallization of Artemisinin from Chromatography Fractions of Artemisia annua Extract*, *Org. Process Res. Dev.*, 20 (3), 646–652, DOI: 10.1021/acs.oprd.5b00399
- [Marchal 1988] Marchal, P., David, R., Klein, J. P., Villermaux, J. (1988): *Crystallization and precipitation engineering—I. An efficient method for solving population balance in crystallization with agglomeration*, *Chem. Eng. Sci.*, 43 (1), 59–67, DOI: 10.1016/0009-2509(88)87126-4
- [Marchisio 2003] Marchisio, D. L., Piktuna, J. T., Fox, R. O., Vigil, R. D., Barresi, A. A. (2003): *Quadrature method of moments for population-balance equations*, *AIChE J.*, 49 (5), 1266–1276, DOI: 10.1002/aic.690490517
- [Matz 1969] Matz, G. (1969): *Kristallisation, Grundlagen und Technik*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg
- [Melin 2007] Melin, T., Rautenbach, R. (2007): *Membranverfahren, Grundlagen der Modul- und Anlagenauslegung*, 3.Aufl., Chemische Technik/Verfahrenstechnik, Springer, Berlin, New York
- [Mersmann 1997] Mersmann, A. (1997): *How to predict the metastable zone width*, *Journal of Crystal Growth*, 240–250, DOI:
- [Mersmann 2001] Mersmann, A. (2001): *Crystallization technology handbook*, 2.Aufl., Marcel Dekker, New York

- [Mersmann 2005a] Mersmann, A., Kind, M., Stichlmair, J. (2005): *Thermische Verfahrenstechnik, Grundlagen und Methoden*, 2.Aufl., Chemische Technik Verfahrenstechnik, Springer, Berlin
- [Mersmann 2005b] Mersmann, A., Kind, M., Stichlmair, J. (2005): *Thermische Verfahrenstechnik, Grundlagen und Methoden*, 2.Aufl., Chemische Technik Verfahrenstechnik, Springer, Berlin
- [Mesbah 2010] Mesbah, A., Landlust, J., Huesman, A.E.M., Kramer, H.J.M., Jansens, P. J., van den Hof, P.M.J. (2010): *A model-based control framework for industrial batch crystallization processes*, *Chem. Eng. Res. Des.*, 88 (9), 1223–1233, DOI: 10.1016/j.cherd.2009.09.010
- [Mestmäcker 2018] Mestmäcker, F., Schmidt, A., Huter, M., Sixt, M., Strube, J. (2018): *Systematic and Model-Assisted Process Design for the Extraction and Purification of Artemisinin from Artemisia annua L. — Part III: Chromatographic Purification, Processes*, 6 (10), 180, DOI: 10.3390/pr6100180
- [Michaels 1968] Michaels, A. S. (1968): *New Separation Technique for CPI*, *Chemical Engineering Progress*, 64 (12), 31–43, DOI:
- [Miller 1994] Miller, S. M., Rawlings, J. B. (1994): *Model identification and control strategies for batch cooling crystallizers*, *AIChE J.*, 40 (8), 1312–1327, DOI: 10.1002/aic.690400805
- [Mohan 2000] Mohan, R., Boateng, K. A., Myerson, A. S. (2000): *Estimation of crystal growth kinetics using differential scanning calorimetry*, *Journal of Crystal Growth*, 212 (3-4), 489–499, DOI: 10.1016/S0022-0248(00)00309-2
- [Mohan 2002] Mohan, R., Lorenz, H., Myerson, A. S. (2002): *Solubility Measurement Using Differential Scanning Calorimetry*, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 41 (19), 4854–4862, DOI: 10.1021/ie0200353

- [Monnier 1997] Monnier, O., Fevotte, G., Hoff, C., Klein, J. P. (1997): *Model identification of batch cooling crystallizations through calorimetry and image analysis*, *Chem. Eng. Sci.*, 52 (7), 1125–1139, DOI: 10.1016/S0009-2509(96)00482-4
- [Mostafa Nowee 2008] Mostafa Nowee, S., Abbas, A., Romagnoli, J. A. (2008): *Antisolvent crystallization: Model identification, experimental validation and dynamic simulation*, *Chem. Eng. Sci.*, 63 (22), 5457–5467, DOI: 10.1016/j.ces.2008.08.003
- [Müller-Erlwein 2015] Müller-Erlwein, E. (2015): *Chemische Reaktionstechnik*, 3.Aufl., Chemie in der Praxis, Springer Spektrum, Wiesbaden
- [Mullin 2001] Mullin, J. W. (2001): *Crystallization*, 4.Aufl., Elsevier professional, s.l.
- [Myerson 2002] Myerson, A. S. (2002): *Handbook of industrial crystallization*. 2. ed., Butterworth-Heinemann, Boston Mass. u.a.
- [Nagy 2008] Nagy, Z. K., Fujiwara, M., Braatz, R. D. (2008): *Modelling and control of combined cooling and antisolvent crystallization processes*, *Journal of Process Control*, 18 (9), 856–864, DOI: 10.1016/j.jprocont.2008.06.002
- [Nagy 2011] Nagy, Z. K., Aamir, E., Rielly, C. D. (2011): *Internal Fines Removal Using Population Balance Model Based Control of Crystal Size Distribution under Dissolution, Growth and Nucleation Mechanisms*, *Cryst. Growth Des.*, 11 (6), 2205–2219, DOI: 10.1021/cg101555u
- [Nambiar 2018] Nambiar, A. M. K., Li, Y., Zydney, A. L. (2018): *Countercurrent staged diafiltration for formulation of high value proteins*, *Biotechnol. Bioeng.*, 115 (1), 139–144, DOI: 10.1002/bit.26441
- [Nguyen 2020] Nguyen, T.-A., Yoshikawa, S. (2020): *Modeling and Economic Optimization of the Membrane Module for Ultrafiltration of Protein*

- Solution Using a Genetic Algorithm, Processes, 8 (1), 4, DOI: 10.3390/pr8010004*
- [Nowee 2007] Nowee, S. M., Abbas, A., Romagnoli, J. A. (2007): *Optimization in seeded cooling crystallization: A parameter estimation and dynamic optimization study, Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 46 (11), 1096–1106, DOI: 10.1016/j.cep.2007.02.020*
- [Ono 2004] Ono, T., Kramer, H. J. M., ter Horst, J. H., Jansens, P. J. (2004): *Process Modeling of the Polymorphic Transformation of L-Glutamic Acid, Cryst. Growth Des., 4 (6), 1161–1167, DOI: 10.1021/cg0497694*
- [Pall Life Sciences 2014] Pall Life Sciences: *Application Note - Volume Reduction and Process Optimization with Cadence™ Inline Concentrator*
- [Puel 2003a] Puel, F., Févotte, G., Klein, J. P. (2003): *Simulation and analysis of industrial crystallization processes through multidimensional population balance equations. Part 1: a resolution algorithm based on the method of classes, Chem. Eng. Sci., 58 (16), 3715–3727, DOI: 10.1016/S0009-2509(03)00254-9*
- [Puel 2003b] Puel, F., Févotte, G., Klein, J. P. (2003): *Simulation and analysis of industrial crystallization processes through multidimensional population balance equations. Part 2: a study of semi-batch crystallization, Chem. Eng. Sci., 58 (16), 3729–3740, DOI: 10.1016/S0009-2509(03)00253-7*
- [Qamar 2009] Qamar, S., Seidel-Morgenstern, A. (2009): *An efficient numerical technique for solving multi-dimensional batch crystallization models with size independent growth rates, Computers & Chemical Engineering, 33 (7), 1221–1226, DOI: 10.1016/j.compchemeng.2009.01.018*
- [Qu 2010] Qu, H. (2010): *Chromatography-Crystallization Hybrid Process for Artemisinin Purification from Artemisia annua, Chemical Engineering and Technology, 791–796, DOI:*

- [Ramkrishna 2000] Ramkrishna, D. (2000): *Population Balances, Theory and Applications to Particulate Systems in Engineering*, Academic Press, London
- [Razavi 2004] Razavi, M. A., Mortazavi, A., Mousavi, M. (2004): *Application of neural networks for crossflow milk ultrafiltration simulation*, *International Dairy Journal*, 14 (1), 69–80, DOI: 10.1016/S0958-6946(03)00150-X
- [Roque 2004] Roque, A. C. A., Lowe, C. R., Taipa, M. A. (2004): *Antibodies and genetically engineered related molecules: production and purification*, *Biotechnology progress*, 20 (3), 639–654, DOI: 10.1021/bp030070k
- [Rucker-Pezzini 2018] Rucker-Pezzini, J., Arnold, L., Hill-Byrne, K., Sharp, T., Avazhanskiy, M., Forespring, C. (2018): *Single pass diafiltration integrated into a fully continuous mAb purification process*, *Biotechnol. Bioeng.*, 115 (8), 1949–1957, DOI: 10.1002/bit.26708
- [Saeed 2012] Saeed, A. (2012): *Effect of feed channel spacer geometry on hydrodynamics and mass transport in membrane modules*
- [Sahm 2013] Sahm, H., Antranikian, G., Stahmann, K.-P., Takors, R. (2013): *Industrielle Mikrobiologie*, Springer Spektrum, Berlin
- [Saito 2001] Saito, N., Yokota, M., Fujiwara, T., Kubota, N. (2001): *A note of the purity of crystals produced in batch suspension crystallization*, *Chemical Engineering Journal*, 84 (3), 573–575, DOI: 10.1016/S1385-8947(01)00155-3
- [Sato 2008] Sato, K., Nagai, H., Hasegawa, K., Tomori, K., Kramer, H.J.M., Jansens, P. J. (2008): *Two-dimensional population balance model with breakage of high aspect ratio crystals for batch crystallization*, *Chem. Eng. Sci.*, 63 (12), 3271–3278, DOI: 10.1016/j.ces.2008.03.013
- [Sattler 2001] Sattler, K. (2001): *Thermische Trennverfahren*, John Wiley & Sons, Hoboken

- [Schmidt 2017] Schmidt, A., Richter, M., Rudolph, F., Strube, J. (2017): *Integration of Aqueous Two-Phase Extraction as Cell Harvest and Capture Operation in the Manufacturing Process of Monoclonal Antibodies, Antibodies*, 6 (4), 21, DOI: 10.3390/antib6040021
- [Schmidt 2018] Schmidt, A., Sixt, M., Huter, M., Mestmäcker, F., Strube, J. (2018): *Systematic and Model-Assisted Process Design for the Extraction and Purification of Artemisinin from Artemisia annua L. — Part II: Model-Based Design of Agitated and Packed Columns for Multistage Extraction and Scrubbing, Processes*, 6 (10), 179, DOI: 10.3390/pr6100179
- [Schmidt 2019] Schmidt, A., Strube, J. (2019): *Distinct and Quantitative Validation Method for Predictive Process Modeling with Examples of Liquid-Liquid Extraction Processes of Complex Feed Mixtures, Processes*, 7 (5), 298, DOI: 10.3390/pr7050298
- [Schock 1987] Schock, G., Miquel, A. (1987): *Mass transfer and pressure loss in spiral wound modules, Desalination*, 64, 339–352, DOI: 10.1016/0011-9164(87)90107-X
- [Schöll 2007] Schöll, J., Lindenberg, C., Vicum, L., Brozio, J., Mazzotti, M. (2007): *Precipitation of alpha L-glutamic acid: determination of growth kinetics, Faraday Discuss*, 136, 247–64; discussion 309–28, DOI: 10.1039/b616285a
- [Shi 2005] Shi, D., Mhaskar, P., El-Farra, N. H., Christofides, P. D. (2005): *Predictive control of crystal size distribution in protein crystallization, Nanotechnology*, 16 (7), S562–74, DOI: 10.1088/0957-4484/16/7/034
- [Shi 2006] Shi, D., El-Farra, N. H., Li, M., Mhaskar, P., Christofides, P. D. (2006): *Predictive control of particle size distribution in particulate processes, Chem. Eng. Sci.*, 61 (1), 268–281, DOI: 10.1016/j.ces.2004.12.059

- [Sixt 2016] Sixt, M., Koudous, I., Strube, J. (2016): *Process design for integration of extraction, purification and formulation with alternative solvent concepts*, *C. R. Chim.*, 19 (6), 733–748, DOI: 10.1016/j.crci.2015.12.016
- [Sixt 2017] Sixt, M., Strube, J. (2017): *Systematic and Model-Assisted Evaluation of Solvent Based- or Pressurized Hot Water Extraction for the Extraction of Artemisinin from Artemisia annua L.*, *Processes*, 5 (4), 86, DOI: 10.3390/pr5040086
- [Sixt 2018a] Sixt, M., Schmidt, A., Mestmäcker, F., Huter, M., Uhlenbrock, L., Strube, J. (2018): *Systematic and Model-Assisted Process Design for the Extraction and Purification of Artemisinin from Artemisia annua L. — Part I: Conceptual Process Design and Cost Estimation*, *Processes*, 6 (9), 161, DOI: 10.3390/pr6090161
- [Sixt 2018b] Sixt, M., Strube, J. (2018): *Systematic Design and Evaluation of an Extraction Process for Traditionally Used Herbal Medicine on the Example of Hawthorn (Crataegus monogyna JACQ.)*, *Processes*, 6 (7), 73, DOI: 10.3390/pr6070073
- [Sixt 2018c] Sixt, M., Uhlenbrock, L., Strube, J. (2018): *Toward a Distinct and Quantitative Validation Method for Predictive Process Modelling — On the Example of Solid-Liquid Extraction Processes of Complex Plant Extracts*, *Processes*, 6 (6), 66, DOI: 10.3390/pr6060066
- [Sommerfeld 2005] Sommerfeld, S., Strube, J. (2005): *Challenges in biotechnology production — generic processes and process optimization for monoclonal antibodies*, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 44 (10), 1123–1137, DOI: 10.1016/j.cep.2005.03.006
- [Song 1998] Song, L. (1998): *Flux decline in crossflow microfiltration and ultrafiltration: mechanisms and modeling of membrane fouling*, *Journal of Membrane Science*, 139 (2), 183–200, DOI: 10.1016/S0376-7388(97)00263-9

- [Strube 2018] Strube, J., Ditz, R., Kornecki, M., Huter, M., Schmidt, A., Thiess, H., Zobel-Roos, S. (2018): *Process intensification in biologics manufacturing, Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 133, 278–293, DOI: 10.1016/j.cep.2018.09.022
- [Su 2015] Su, Q., Benyahia, B., Nagy, Z. K., Rielly, C. D. (2015): *Mathematical Modeling, Design, and Optimization of a Multisegment Multiaddition Plug-Flow Crystallizer for Antisolvent Crystallizations*, *Org. Process Res. Dev.*, 19 (12), 1859–1870, DOI: 10.1021/acs.oprd.5b00110
- [Suberu 2014] Suberu, J. O., Yamin, P., Leonhard, K., Song, L., Chemat, S., Sullivan, N., Barker, G., Lapkin, A. A. (2014): *The effect of O-methylated flavonoids and other co-metabolites on the crystallization and purification of artemisinin*, *Journal of Biotechnology*, 171, 25–33, DOI: 10.1016/j.jbiotec.2013.11.024
- [Subramanian 2018] Subramanian, G. (2018): *Continuous biomanufacturing, Innovative technologies and methods*, Wiley-VCH, Weinheim
- [Tansel 2000] Tansel, B., Bao, W. Y., Tansel, I. N. (2000): *Characterization of fouling kinetics in ultrafiltration systems by resistances in series model*, *Desalination*, 129 (1), 7–14, DOI: 10.1016/S0011-9164(00)00046-1
- [Teodosiu 2000] Teodosiu, C. (2000): *Neural network models for ultrafiltration and backwashing*, *Water Research*, 34 (18), 4371–4380, DOI: 10.1016/S0043-1354(00)00217-7
- [Teske 2010] Teske, C. A., Lebreton, B., van Reis, R. (2010): *Inline ultrafiltration*, *Biotechnol Progress*, NA, DOI: 10.1002/btpr.404
- [Thiess 2017] Thiess, H., Leuthold, M., Grummert, U., Strube, J. (2017): *Module design for ultrafiltration in biotechnology*, *Journal of Membrane Science*, 540, 440–453, DOI: 10.1016/j.memsci.2017.06.038
- [Thiess 2019] Thiess, H. (2019): *Modellierung von Membrantrennverfahren am Beispiel der Ultrafiltration in der biotechnologischen und der*

*Pervaporation in der chemischen Verfahrenstechnik, Thermische
Verfahrens- und Prozesstechnik*

- [Tu 2017] Tu, Y. (2017): *From Artemisia annua L. to Artemisinin, The Discovery and Development of Artemisinin and Antimalarial Agents*, Elsevier Science, San Diego
- [Turconi 2014] Turconi, J., Griolet, F., Guevel, R., Oddon, G., Villa, R., Geatti, A., Hvala, M., Rossen, K., Göller, R., Burgard, A. (2014): *Semisynthetic Artemisinin, the Chemical Path to Industrial Production*, *Org. Process Res. Dev.*, 18 (3), 417–422, DOI: 10.1021/op4003196
- [Ulrich 1981] Ulrich, J. (1981): *Zur Kristallkeimbildung durch mechanischen Abrieb. Dissertation*, RWTH Aachen
- [Ulrich 2002] Ulrich, J. (2002): *Some aspects of the importance of metastable zone width and nucleation in industrial crystallizers*, *Journal of Crystal Growth*, 2130–2135, DOI:
- [Unger 1994] Unger, K. K. (1994): *Handbuch der HPLC - Teil 2: Präparative Säulenflüssig- Chromatographie*, GIT-Verlag, Darmstadt
- [van den Berg 1989] van den Berg, G. B., Smolders, C. A. (1989): *The boundary-layer resistance model for unstirred ultrafiltration. A new approach*, *Journal of Membrane Science*, 40 (2), 149–172, DOI: 10.1016/0376-7388(89)89002-7
- [van den Berg 1990] van den Berg, G. B., Smolders, C. A. (1990): *Flux decline in ultrafiltration processes*, *Desalination*, 77, 101–133, DOI: 10.1016/0011-9164(90)85023-4
- [van Drunen 1996] van Drunen, M. A., Merkus, H. G., Scarlett, B., van Rosmalen, G. M. (1996): *Barium Sulfate Precipitation: Crystallization kinetics and the role of the additive PMA-PVS, Part. Part. Syst. Character.*, 13 (5), 313–321, DOI: 10.1002/ppsc.19960130511

- [van Enkevort 1996] van Enkevort, W.J.P., van der Berg, A.C.J.F., Kreuvel, K.B.G., Derksen, A. J., Couto, M. S. (1996): *Impurity blocking of growth steps*, *Journal of Crystal Growth*, 166 (1-4), 156–161, DOI: 10.1016/0022-0248(96)00136-4
- [van Reis 2007] van Reis, R., Zydney, A. (2007): *Bioprocess membrane technology*, *Journal of Membrane Science*, 297 (1–2), 16–50, DOI: 10.1016/j.memsci.2007.02.045
- [Wang 2007] Wang, L.-H., Song, Y.-T., Chen, Y., Cheng, Y.-Y. (2007): *Solubility of Artemisinin in Ethanol + Water from (278.2 to 343.2) K*, *J. Chem. Eng. Data*, 52 (3), 757–758, DOI: 10.1021/je0603426
- [Warikoo 2012] Warikoo, V., Godawat, R., Brower, K., Jain, S., Cummings, D., Simons, E., Johnson, T., Walther, J., Yu, M., Wright, B., Mclarty, J., Karey, K. P., Hwang, C., Zhou, W., Riske, F., Konstantinov, K. (2012): *Integrated continuous production of recombinant therapeutic proteins*, *Biotechnology and Bioengineering*, 109 (12), 3018–3029, DOI: 10.1002/bit.24584
- [Warstat 2007] Warstat, A. (2007): *Optimierung von Batch-Kühlungskristallisation*, *Chemie Ingenieur Technik*, 272–280, DOI:
- [Wieckhusen 2013] Wieckhusen, D., in *Crystallization: Basic Concepts and Industrial Applications* (Eds: W. Beckmann), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA 2013
- [Wijmans 1984] Wijmans, J. G., Nakao, S., Smolders, C. A. (1984): *Flux limitation in ultrafiltration: Osmotic Pressure Model and Gel Layer Model*, *Journal of Membrane Science*, 20 (1), 115–124, DOI: 10.1016/S0376-7388(00)81327-7
- [Wijmans 1985] Wijmans, J. G., Nakao, S., van den Berg, J.W.A., Troelstra, F. R., Smolders, C. A. (1985): *Hydrodynamic resistance of concentration*

- polarization boundary layers in ultrafiltration, Journal of Membrane Science*, 22 (1), 117–135, DOI: 10.1016/S0376-7388(00)80534-7
- [Woodcock 2014] Woodcock, J. (2014): *Modernizing Pharmaceutical Manufacturing – Continuous Manufacturing as a Key Enabler*
- [Worlitschek 2004] Worlitschek, J., Mazzotti, M. (2004): *Model-Based Optimization of Particle Size Distribution in Batch-Cooling Crystallization of Paracetamol, Cryst. Growth Des.*, 4 (5), 891–903, DOI: 10.1021/cg034179b
- [YANG 2014] YANG, X., QIAN, G., ZHANG, X., DUAN, X., ZHOU, X. (2014): *Effects of Solvent and Impurities on Crystal Morphology of Zinc Lactate Trihydrate, Chinese Journal of Chemical Engineering*, 22 (2), 221–226, DOI: 10.1016/S1004-9541(14)60026-4
- [Young 1980] Young, M. E., Carroad, P. A., Bell, R. L. (1980): *Estimation of diffusion coefficients of proteins, Biotechnol. Bioeng.*, 22 (5), 947–955, DOI: 10.1002/bit.260220504
- [Yousef 1998] Yousef, M. A., Datta, R., Rodgers, V.G.J. (1998): *Free-Solvent Model of Osmotic Pressure Revisited: Application to Concentrated IgG Solution under Physiological Conditions, Journal of Colloid and Interface Science*, 197 (1), 108–118, DOI: 10.1006/jcis.1997.5262
- [Zobel-Roos 2019a] Zobel-Roos, S., Schmidt, A., Mestmäcker, F., Mouellef, M., Huter, M., Uhlenbrock, L., Kornecki, M., Lohmann, L., Ditz, R., Strube, J. (2019): *Accelerating Biologics Manufacturing by Modeling or: Is Approval under the QbD and PAT Approaches Demanded by Authorities Acceptable Without a Digital-Twin?*, *Processes*, 7 (2), 94, DOI: 10.3390/pr7020094
- [Zobel-Roos 2019b] Zobel-Roos, S., Mouellef, M., Ditz, R., Strube, J. (2019): *Distinct and Quantitative Validation Method for Predictive Process Modelling in Preparative Chromatography of Synthetic and Bio-Based Feed Mixtures*

Following a Quality-by-Design (QbD) Approach, Processes, 7 (9), 580,
DOI: 10.3390/pr7090580

[Zydney 2016]

Zydney, A. L. (2016): *Continuous downstream processing for high value biological products*, *Biotechnol. Bioeng.*, 113 (3), 465–475, DOI: 10.1002/bit.25695